

Caracterización del sistema de dos componentes CbrAB en *Pseudomonas putida* KT2442

Memoria presentada por Sofía Muñoz García-Mauriño para optar al grado
de Doctora
Sevilla, 11 Marzo de 2014.

**El Director de la
Tesis,**

**La Codirectora de la
Tesis,**

La Doctoranda,

**Dr. Eduardo Santero
Santurino**

**Dra. Inés Canosa
Pérez-Fragero.**

**Sofía Muñoz García-
Mauriño.**

1. INTRODUCCIÓN.....	15
1.1. El género <i>Pseudomonas</i>.....	17
1.1.1. <i>Pseudomonas putida</i> como modelo de bacteria ambiental.....	18
1.1.2. La regulación de la expresión génica en <i>Pseudomonas</i>	19
1.2. Los sistemas reguladores de dos componentes (TCS).....	20
1.2.1. Sistema de transmisión de señales por transferencia de fosfatos.....	21
1.2.2. Proteínas sensoras.....	22
1.2.3. Elementos reguladores de respuesta (RR).....	24
1.3. Sistemas de dos componentes activadores de promotores dependientes de σ^N.....	26
1.3.1. NtrC como paradigma de RR de promotores dependientes de σ^N	28
1.4. El sistema de dos componentes CbrAB.....	29
1.4.1. La proteína HK sensora CbrA.....	30
1.4.2. El elemento regulador CbrB.....	31
1.4.3. Control global por CbrB.....	32
1.5. Integración del sistema regulador CbrAB y la represión catabólica mediada por Crc.....	35
2. OBJETIVOS.....	39
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.1. Estirpes, plásmidos, oligonucleótidos y condiciones de cultivo.....	45
3.1.1. Estirpes utilizadas en esta tesis.....	45
3.1.2. Plásmidos utilizados en esta tesis.....	46
3.1.3. Oligonucleótidos utilizados en esta tesis.....	50
3.1.4. Medios y condiciones de cultivo.....	53
3.1.5. Conservación de estirpes bacterianas.....	55
3.1.6. Ensayo de movilidad en agar blando.....	55
3.2. Manipulación de ácidos nucleicos.....	55
3.2.1. Preparación de DNA plasmídico.....	55
3.2.2. Preparación de DNA cromosómico.....	56
3.2.3. Amplificación de DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	56
3.2.4. PCR solapante.....	57
3.2.5. Electroforesis de DNA.....	58

3.2.6. Aislamiento y purificación de fragmentos de DNA.....	59
3.2.7. Clonación de fragmentos de DNA en plásmidos.....	59
3.2.8. Transferencia de plásmidos por conjugación.....	60
3.2.9. Obtención de células competentes.....	60
3.2.10. Transferencia de plásmidos por transformación mediante choque término.....	61
3.2.11. Transferencia de plásmidos por electroporación.....	61
3.2.12. Secuenciación de DNA.....	62
3.2.13. Preparación de RNA total.....	62
3.2.14. Marcaje de sondas de DNA.....	63
3.2.14.1. Marcaje de las sondas de DNA con radioactividad.....	63
3.2.14.2. Marcaje de las sondas de DNA con digoxigenina.....	63
3.2.15. Hibridación de sondas de RNA (Northern Blot).....	63
3.2.15.1. Deshibridación de membranas de Northern Blot.....	66
3.2.15.2. Tratamiento con TEX.....	66
3.2.16. Construcción del mutante <i>cbrA</i> (MPO413).....	67
3.3. Análisis de la expresión génica.....	69
3.3.1. Ensayos de actividad β -galactosidasa.....	69
3.3.2. Cuantificación de la expresión de <i>crcZ</i> fusionada a GFP.....	70
3.3.3. Retrotranscripción de RNA.....	70
3.3.4. PCR semicuantitativa.....	70
3.3.5. PCR cuantitativa (RT-qPCR).....	71
3.3.6. Transcripción in vitro.....	72
3.4. Manipulación de proteínas.....	73
3.4.1. Electroforesis desnaturizante de proteínas en geles de poliacrilamida- SDS.....	73
3.4.2. Detección de proteínas en PAGE por reconocimiento antígeno- anticuerpo (<i>Western blotting</i>).....	74
3.4.3. Superproducción de proteínas en <i>E. coli</i> y <i>P. putida</i>	75
3.4.4. Purificación de CbrB silvestre.....	76
3.4.5. Producción de anticuerpos antiCbrB.....	76
3.4.6. Purificación de las proteínas IHF de <i>E. coli</i> y σ^N de <i>P. putida</i>	77
3.4.7. Fosforilación in vitro de CbrB mediante acetil fosfato.....	77

3.4.8. Filtración en gel de CbrB.....	77
3.5. Análisis de interacciones DNA-proteína.....	79
3.5.1. Ensayos de retardo en gel.....	79
3.5.2. Ensayo de protección frente a digestión con DNasa I (<i>Footprint</i>).....	79
3.6. Experimento de ChIP-Seq en <i>Pseudomonas putida</i>.....	80
3.7. Extracción y análisis de metabolitos de <i>Pseudomonas</i>.....	84
4. RESULTADOS.....	85
4.1. Capítulo 1: Caracterización del mecanismo de activación mediado por CbrB en los RNAs pequeños CrcZ y CrcY.....	87
4.1.1. Análisis de la secuencias promotoras de los RNAs pequeños CrcZ y CrcY	87
4.1.2. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de CrcZ y CrcY	89
4.1.3. Análisis de la transcripción de <i>crcY</i>	91
4.1.3.1. Regulación transcripcional del promotor PP3539.....	95
4.1.4. Construcción, purificación y complementación con la proteína CbrB fusionada a una cola de histidinas.....	96
4.1.5. Unión de CbrB a las regiones promotoras de CrcZ y CrcY	99
4.1.5.1. Efecto de la fosforilación en la unión <i>in vitro</i>	100
4.1.5.2. Localización de los subsitios de unión de CbrB en <i>PcrcZ</i> y <i>PcrcY</i>	101
4.1.5.3. Comparación de las secuencias promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> con otras <i>Pseudomonas</i>	104
4.1.5.4. Mutagénesis puntual de los subsitios de unión de CbrB en las secuencias promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i>	105
4.1.6. Estudio del papel de IHF en la activación de <i>crcZ</i> y <i>crcY in vivo</i> y de su capacidad de unión a la regiones promotoras de los RNAs pequeños.....	112
4.1.7. Mecanismo de activación de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i>	115
4.1.7.1. Elementos necesarios para la activación <i>in vitro</i> de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> ...	115
4.1.7.2. Papel de la fosforilación de CbrB en la activación <i>in vivo</i> de los pequeños RNAs.....	117
4.1.8 Estudio de otros factores que controlan la expresión de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i>	120

4.1.8.1 Efecto de Crc en la expresión de <i>cbrB</i> , <i>crcZ</i> y <i>crcY</i>	120
4.2. Capítulo 2: Identificación de genes directamente regulados por CbrB en <i>Pseudomonas putida</i>.....	123
4.2.1. Puesta a punto de la técnica de ChIP-Seq en <i>Pseudomonas putida</i>	124
4.2.2. Análisis de las secuencias obtenidas del ensayo de ChIP-seq: predicción de subsitios de unión de CbrB y promotores σ^N	127
4.2.3. Búsqueda de secuencias consenso de unión de CbrB.....	131
4.1.4. Análisis bioestadístico paralelo del ChIP-seq con filtrado de datos.....	134
4.3. Capítulo 3: Estudio de la regulación mediada por CbrB de otros genes identificados en el ChIP-seq.....	136
4.3.1. Regulación de la transcripción del gen <i>PP2810</i> mediada por CbrB.....	136
4.3.1.1. Análisis <i>in silico</i> de la región promotora.....	136
4.3.1.2. Estudio de la unión de CbrB a la región promotora de <i>PP2810</i>	137
4.3.1.3. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>PP2810</i>	139
4.3.1.4. Mutagénesis dirigida en los subsitios de unión de CbrB en la secuencia promotora de <i>PP2810</i>	140
4.3.1.5. Comparación de la secuencia promotora de <i>PP2810</i> con otras <i>Pseudomonas</i>	143
4.3.2. Regulación de la transcripción del gen <i>PP3327</i> mediada por CbrB.....	144
4.3.2.1. Análisis <i>in silico</i> de la región promotora del gen <i>PP3327</i>	144
4.3.2.2. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>PP3327</i>	145
4.3.3. Alineamiento de las secuencias promotoras de aquellos genes que presentan al menos dos subsitios de unión de CbrB perfectos: <i>crcZ</i> , <i>crcY</i> , <i>PP2810</i> y <i>PP3327</i>	147
4.3.4. Determinación del estado de oligomerización de CbrB: filtración en gel.....	148
4.4. Capítulo 4: Caracterización de la proteína sensora CbrA.....	151
4.4.1. Construcción de un mutante de delección de <i>cbrA</i> ($\Delta cbrA$, MPO413) de <i>P. putida</i> KT2442.....	151
4.4.2. Caracterización fenotípica del mutante MPO413 ($\Delta cbrA$) y	

complementación cromosómica.....	152
4.4.3. Construcción de mutantes en los distintos dominios de CbrA.....	153
4.4.3.1. Caracterización fenotípica de los mutantes en dominios de CbrA.....	156
4.4.4. Construcción de mutantes en los posibles ATGs de inicio de la traducción para CbrA.....	160
4.4.4.1. Caracterización fenotípica de los mutantes en los ATGs de CbrA.....	163
4.4.5. Análisis de la región intergénica de <i>cbrA</i> de <i>P. putida</i>	167
4.4.6. Caracterización de la señal activadora del sistema CbrAB en <i>P. putida</i> KT2442 y <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	170
4.4.6.1. Determinación de las condiciones de represión catabólica y máximos niveles de activación por CbrB.....	171
4.4.6.2. Intercambio de las proteínas CbrA entre <i>P. putida</i> y <i>P. aeruginosa</i>	175
4.4.6.3. Análisis del metaboloma de <i>P. aeruginosa</i>	177
5. DISCUSIÓN.....	183
5.1. Mecanismos de regulación mediados por CbrB en <i>Pseudomonas putida</i>.....	185
5.1.1. Mecanismo de activación transcripcional por CbrB.....	185
5.1.2. Relación del sistema CbrAB con el fenómeno de represión catabólica mediado por Crc.....	190
5.2. Identificación de genes directamente regulados por CbrB en <i>P. putida</i>.....	194
5.3. Papel de la histidina quinasa CbrA en la activación mediada por CbrB en <i>Pseudomonas putida</i>.....	198
5.4. Señal interna reguladora de la actividad del TCS CbrAB.....	202
6. CONCLUSIONES.....	207
7. BIBLIOGRAFÍA.....	211

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de proteínas de transducción de señales en distintas bacterias.	19
Tabla 2. Tabla de estirpes.	45
Tabla 3. Tabla de plásmidos.	46
Tabla 4. Tabla de oligonucleótidos.	50
Tabla 5. Sondas para la realización de los ensayos de footprint con CbrB.	102
Tabla 6. Promotores destacados del ChIP-seq por ser susceptibles de ser regulados por CbrB.	130
Tabla 7. Resumen de la caracterización fenotípica de los mutantes de <i>cbrA</i>	167

Índice de figuras

Figura 1. Esquema de un sistema de dos componentes típico.	21
Figura 2. Representación esquemática de los tres mecanismos de recepción de la señal.	24
Figura 3. Clasificación de reguladores de respuesta más comunes en bacterias.	25
Figura 4. Esquema del modo activación de un promotor tipo σ^N .	27
Figura 5. Mecanismo de activación de los reguladores de respuesta tipo NtrC.	28
Figura 6. Representación esquemática de los dominios conservados en CbrA de <i>P. putida</i> .	30
Figura 7. Representación esquemática de los dominios conservados en CbrB de <i>P. putida</i> .	31
Figura 8. Ruta de regulación del sistema CbrAB en <i>Pseudomonas putida</i> .	36
Figura 9. Representación de un RNA pequeño típico asociado a Hfq.	37
Figura 10. Esquema de una PCR solapante.	57
Figura 11. Esquema de la transferencia de RNA por capilaridad.	64
Figura 12. Tratamiento con TEX.	66
Figura 13. Construcción del mutante de delección <i>cbrA</i> .	67
Figura 14. Esquema del experimento de Chip-seq.	81
Figura 15. Representación del contexto genómico de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	88
Figura 16. Niveles de expresión de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	90
Figura 17. Representación del contexto genómico de <i>pobR-PP3539-mvaB-crcY</i> .	91
Figura 18. RT-PCR para la detección de transcritos provenientes de la región intergénica de <i>mvaB-crcY</i> .	92
Figura 19. Ensayo de <i>Dot-Blot</i> con RNA total con sondas de <i>mvaB</i> y <i>crcY</i> .	93
Figura 20. Ensayo de <i>Northern Blot</i> de RNA total con una sonda que contiene <i>crcY</i> .	94
Figura 21. Ensayo de <i>Northern Blot</i> con RNA tratado con TEX con una sonda que contiene <i>crcY</i> .	95
Figura 22. Regulación transcripcional de <i>PP3539</i> .	96
Figura 23. Esquema del vector pET14b y la proteína CbrB-His ₆ .	97
Figura 24. Gel de acrilamida con las diferentes fracciones de la superproducción y purificación de CbrB-His ₆ .	98
Figura 25. Ensayo de complementación del mutante $\Delta cbrB$ con la proteína CbrB-His ₆ .	99
Figura 26. Ensayo de retraso en la movilidad electroforética (EMSA) que refleja la unión de CbrB a las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	100
Figura 27. Efecto de la fosforilación en la unión de CbrB a las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	101

Figura 28. Ensayo de protección con CbrB frente a digestión con DNasa I de las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> de <i>P. putida</i> .	103
Figura 29. Alineamiento de las secuencias de las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> en diferentes especies de <i>Pseudomonas</i> .	104
Figura 30. Esquema de la construcción de fusiones con mutaciones puntuales del promotor de <i>crcZ</i> a <i>lacZ</i> .	107
Figura 31. Esquema de la construcción de fusiones transcripcionales a <i>lacZ</i> con mutaciones puntuales del promotor de <i>crcY</i> .	108
Figura 32. Medida de la expresión <i>in vivo</i> de las fusiones transcripcionales <i>crcZ::</i> y <i>crcY::lacZ</i> silvestre y mutantes en los posibles subsitios de unión de CbrB.	109
Figura 33. EMSA de la unión de CbrB a las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> con los subsitios mutados.	111
Figura 34. Análisis del efecto de IHF en la activación transcripcional <i>in vivo</i> de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	112
Figura 35. EMSA de IHF a las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	113
Figura 36. Ensayo de protección a la digestión con DNasa I de las regiones promotoras de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> de <i>P. putida</i> con IHF.	114
Figura 37. Transcripción <i>in vitro</i> de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	116
Figura 38. Superproducción de CbrB en <i>P. putida</i> con el plásmido pMPO385.	118
Figura 39. Estudio del efecto de la dosis de CbrB no fosforilado en la expresión de <i>crcZ</i> .	119
Figura 40. Efecto de Crc en la expresión de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> .	121
Figura 41. Niveles de transcritos de <i>crcZ</i> y <i>crcY</i> analizados por <i>Northern blot</i> en las estirpes silvestre y mutante <i>crc⁻</i> cultivados en LB.	122
Figura 42. Efecto de Crc en la expresión de <i>cbrB</i> a nivel transcripcional y traduccional.	123
Figura 43. Identificación de CbrB mediante <i>western blotting</i> .	125
Figura 44. Fragmentación de DNA mediante sonicación.	125
Figura 45. Cuantificación mediante RT-qPCR del enriquecimiento del DNA inmunoprecipitado en dianas reguladas por CbrB.	126
Figura 46. Herramientas informáticas que se encuentran disponibles en MEME Suite y su principal función.	131
Figura 47. Motivos hallados en el documento <i>fasta100</i> mediante MEME	132
Figura 48. Motivos hallados en el documento <i>fasta</i> mediante MEME-ChIP	133
Figura 49. Representación gráfica obtenida mediante el visualizador de picos de ChIP-seq Integrative Genome Viewer (IGV).	135
Figura 50. Contexto genómico de <i>PP2810</i>	137
Figura 51. Unión de CbrB a la región promotora de <i>PP2810</i>	138
Figura 52. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>PP2810</i>	139
Figura 53. Esquema de las construcciones que contienen las distintas variantes del promotor de <i>PP2810</i> fusionadas a <i>lacZ</i>	141
Figura 54. Análisis <i>in vivo</i> de las fusiones transcripcionales silvestre y mutantes de <i>PP2810</i>	142
Figura 55. Alineamiento de la secuencia de la región promotora de <i>PP2810</i> en diferentes especies de <i>Pseudomonas</i> .	143
Figura 56. Contexto genómico de <i>PP3327</i>	145
Figura 57. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>PP3327</i> y <i>PP3328.1</i>	147
Figura 58. Alineamiento de la secuencia promotora de <i>crcZ</i> , <i>crcY</i> , <i>PP2810</i> y <i>PP3327</i> .	148
Figura 59. Determinación del estado de oligomerización de CbrB mediante filtración en gel	150
Figura 60. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>cbrA</i> en la estirpe mutante MPO413 ($\Delta cbrA$)	151
Figura 61. Curvas de crecimiento medido como aumento de la densidad óptica a 600 nm (A_{600}) en función del tiempo para las estirpes KT2442, mutante <i>cbrB</i>	152

(MPO401), mutante $\Delta cbrA$ (MPO413) y complementada $\Delta cbrA-cbrA$ (MPO454).	
Figura 62. Esquema que muestra los dominios de la proteína sensora CbrA	153
Figura 63. Esquema de las versiones silvestre y mutantes de los distintos dominios de CbrA	154
Figura 64. Curva de crecimiento medido como aumento de la densidad óptica a 600 nm (A_{600}) en función del tiempo para las estirpes silvestre KT2442, MPO413 ($\Delta cbrA$), MPO454 ($\Delta cbrA-cbrA$), MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS), MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble)	156
Figura 65. Ensayos de movilidad por <i>swimming</i> en agar blando	157
Figura 66. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>crcZ</i> en las estirpes mutantes en los distintos dominios de CbrA	158
Figura 67. Diferencias en la traducción de CbrA en la estirpe silvestre y mutante MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5)	159
Figura 68. Traducción desfasada en el mutante MPO474 ($\Delta cbrA$ - TM2,5)	160
Figura 69. Esquema que muestra el diseño de los plásmidos para construir mutantes de traducción de CbrA	162
Figura 70. Esquema que muestra el diseño del plásmido para construir el mutante carente del promotor de <i>cbrA</i> : pMPO462 (<i>cbrA</i> - ΔP_{cbrA})	163
Figura 71. Crecimiento en citrato en las estirpes mutantes en la traducción de CbrA	164
Figura 72. Ensayos de movilidad por <i>swimming</i> en agar blando	165
Figura 73. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>crcZ</i> en las estirpes mutantes en la traducción de CbrA	166
Figura 74. Contexto genómico de la región aguas arriba de <i>cbrA</i> en <i>P. aeruginosa</i> y <i>P. putida</i>	168
Figura 75. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>crcZ</i> en diferentes fuentes de carbono	173
Figura 76. Expresión de una fusión cromosómica <i>crcZ::gfp</i> (pME9824) en la estirpe silvestre de <i>P. putida</i> creciendo en succinato, fumarato y oxalacetato como fuentes de carbono en erlenmeyer	174
Figura 77. Crecimiento en citrato de las estirpe mutante MPO413 complementada con <i>cbrA</i> de <i>P. putida</i> y <i>P. aeruginosa</i>	176
Figura 78. Análisis <i>in vivo</i> de la expresión de <i>crcZ</i> en la estirpe mutante MPO413 complementada con <i>cbrA</i> de <i>P. putida</i> y <i>P. aeruginosa</i>	177
Figura 79. Curva de crecimiento en fumarato y oxalacetato y niveles de expresión de <i>crcZ</i> en estos medios	179
Figura 80. Cuantificación de metabolitos para calcular la relación C/N	180
Figura 81. Cuantificación de metabolitos del ciclo TCA	181
Figura 82. Cuantificación aminoácidos principales	181
Figura 83. Cuantificación de metabolitos para calcular el balance de energía	182
Figura 84. Modelo propuesto de activación de CbrB	189
Figura 85. Modelo global de regulación del TCS CbrAB en interacción con Crc	193
Figura 86. Diagrama que muestra el papel del glutamato en el metabolismo de las <i>Pseudomonas</i>	205

Índice de anexos

Anexo 1. Lista de los 117 picos del ChIP-seq generados por BGI ordenados según tags/longitud.	CD
Anexo 2. Secuencia de los 117 picos del ChIP-seq y localización de posibles promotores σ^N y subsitios de CbrB entre los picos.	CD
Anexo 3. Cuantificación de posibles promotores σ^N y subsitios de CbrB entre los 117 picos del ChIP-seq.	CD

- Anexo 4.** Documento *fasta100* con las 100 pb circundantes al *summit* de los 117 picos del ChIP-seq. CD
- Anexo 5.** Lista de picos del ChIP-seq generados por GBPA clasificados en 4 categorías (*ranks*) CD
- Anexo 6.** Cuantificación de los metabolitos encontrados en los puntos A, B y C. CD

ABREVIATURAS

A_n: absorbancia a n nanómetros

Ap: ampicilina

ATP: adenosina trifosfato

BGI: *Beijing Genomics Institute*

BSA: Albúmina de suero bovino (*bovine serum albumin*)

Cb: carbenicilina

CbrB-His₆: CbrB con una cola de 6 histidinas

ChIP-Seq: *Chromatin ImmunoPrecipitation and sequencing*

cDNA: ADN complementario

Cm: cloranfenicol

col. : colaboradores

CTP: citidina trifosfato

dATP: desoxiadenosina trifosfato

dCTP: desoxicitidina trifosfato

DEPC: dietilpirocarbonato

dGTP: desoxiguanosina trifosfato

DMSO: dimetil sulfóxido

DNA: ácido desoxirribonucleico

dNTP: desoxinucleótido trifosfato

DTT: ditioneitol

dTTP: desoxitimidina trifosfato

EDTA: ácido etilendiaminotetracético

EBP : *enhancer binding protein*

F: subsitio de unión de CbrB tipo TGTTAC (*forward*)

GFP: proteína fluorescente verde (*green fluorescent protein*)

Gm: gentamicina

GO: ontología genética

GTP: guanosina trifosfato

H: hora

His-tag: cola de histidinas

HK: histidina quinasa (*h*istidine-kinase)

HTH: hélice-giro-hélice (*h*elix-turn helix)

IHF: factor de integración de hospedador (*i*ntegration host factor)

IPTG: isopropil-b-D-tiogalactósido

K_{app}: constante aparente de unión

Kb: kilobase

KDa: kilodalton

Km: kanamicina

LB: medio Luria-Bertani

min: minuto

MM: medio mínimo

mRNA: RNA mensajero

NGS: *n*ext generation sequencing

PAGE: electroforesis en gel de poliacrilamida (*p*oly-acrylamide gel electrophoresis)

pb: par de bases

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (*p*olimerase chain raction)

PEG: polietilenglicol

p/v: relación peso/volumen

R: sub sitio de unión de CbrB tipo GTAACA (*r*everse)

RC: represión catabólica

RNA: ácido ribonucleico

RR: regulador de respuesta (*r*esponse regulator)

rRNA: RNA ribosómico

RT: retrotranscripción.

RT-PCR: PCR con con transcriptasa inversa (*r*everse transcription polymerase chain raction)

RT-QPCR: PCR cuantitativa en tiempo real (*r*eal time quantitative polymerase chain raction)

σ: factor sigma

SBS: secuenciación por síntesis

SDS: dodecil sulfato sódico (*sodium dodecyl sulfate*)
Scc: succinato
sRNA: RNA pequeño (*small RNA*)
TAE: Tris-acetato-EDTA
TBE: Tris-borato-EDTA
Tc: tetraciclina
TCS: sistema de dos componentes (*two-component system*)
TEMED: N,N,N,N'-tetrametiletildiamina
TEX: *Terminator 5' phosphate-dependent exonuclease*
TER: Tris-EDTA-RNasa
TFs: factores transcripcionales
TM: transmembrana
U.M: unidades Miller
UTP: uridina trifosfato
v/v: relación volumen/volumen
X-gal: 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -D-galactopiranos

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El género *Pseudomonas*

Las bacterias del género *Pseudomonas* pertenecen a la subclase γ de las Proteobacterias y son bacilos Gram-negativos aerobios y quimioorganotrofos que poseen uno o varios flagelos polares que les dotan de movilidad. Son además bacterias ubicuas, capaces de adaptarse a hábitats muy diversos como animales, plantas, suelos, ambientes acuáticos o la rizosfera (Lugtenberg & Dekkers, 1999, Palleroni & Moore, 2004).

El género *Pseudomonas* es un grupo taxonómico muy amplio de especies que, en su conjunto, muestra una gran versatilidad metabólica, fisiológica y genética y juega un papel importante en el reciclaje de elementos, degradación de componentes orgánicos biogénicos y xenobióticos, deterioro de alimentos, crecimiento y protección frente a patógenos de plantas, parasitismo de otras bacterias y producción de enfermedades en animales y plantas, etc (Timmis, 2002). Además, muchas bacterias de este género son a menudo resistentes a antibióticos, desinfectantes, detergentes y metales pesados y son capaces de desarrollar resistencia a solventes orgánicos que dañan la membrana celular de bacterias no adaptadas (Ramos *et al.*, 2002). Los genomas del género *Pseudomonas* tienen un tamaño de entre 6 a 7 Mpb y al compararse con una centena de genomas bacterianos secuenciados solo unos pocos son mayores (por ejemplo *Polyangium cellulosum* con 12,2 Mpb, (Altschul *et al.*, 1997)).

P. aeruginosa es la especie del género *Pseudomonas* que primero fue secuenciada y de la que existe más información, principalmente por su relevancia en biomedicina, ya que es considerada la especie patogénica oportunista más importante (D'Argenio *et al.*, 2007). Afecta a las vías respiratorias y es especialmente peligrosa en pacientes con fibrosis quística, más vulnerables a su ataque, pues al colonizar las vías respiratorias forma biofilms, y estos son altamente resistentes a antibióticos, convirtiéndose en una infección crónica que va deteriorando el sistema respiratorio. Los genomas de *P. aeruginosa* y *P. putida* contienen muchos genes similares, presentando además un 50% de identidad en la secuencia de amino ácidos en casi la mitad de sus secuencias codificantes (Weinel *et al.*, 2002). Otros ejemplos de *Pseudomonas* bien estudiadas son *P. syringae* pathovar tomato DC3000 que es un organismo fitopatogénico para *Arabidopsis thaliana* y para la planta del tomate y *P. fluorescens* que se ha utilizado como método de control biológico para la protección de plantas de cultivos del ataque de oomicetos y hongos (Haas & Defago, 2005). Esta bacteria, habita la rizosfera de muchas plantas e inhibe los ataques de

patógenos mediante la producción de un amplio espectro de antibióticos y otros metabolitos secundarios (Paulsen *et al.*, 2005).

1.1.1. *Pseudomonas putida* como modelo de bacteria ambiental

Pseudomonas putida es un organismo saprófito frecuentemente aislado de suelos y aguas templadas, especialmente de suelos contaminados. Es un oportunista nutricional y su versatilidad metabólica le permite reciclar compuestos orgánicos en compartimentos aerobios del medio, por tanto jugando un papel esencial en el mantenimiento de la calidad ambiental. Su rápido crecimiento bajo condiciones copiotrofas (alta aireación, disponibilidad de minerales, temperatura de incubación entre 20 y 30 °C, etc) típicas de cultivos de enriquecimiento en los que se usa un compuesto recalcitrante como única fuente de carbono y energía, y su facilidad de manejo en el laboratorio, han hecho de *P. putida* un modelo de trabajo para el análisis genético de bacterias de suelo. Por tanto, esta especie ha adquirido considerable atención debido a su potencial en numerosas aplicaciones biotecnológicas. Además, sus sencillos requerimientos nutricionales les permite crecer en condiciones normales de laboratorio y que prevalezca sobre otros microorganismos que pudieran estar presentes en una muestra (Timmis, 2002).

Muchos de los fenotipos degradadores de esta bacteria se encuentran codificados en plásmidos y se intercambian con facilidad entre distintas especies de *Pseudomonas* y otras relacionadas. Algunos ejemplos de estos plásmidos catabólicos son el plásmido TOL pWWO (Williams & Murray, 1974), el plásmido NAH7 (Dunn & Gunsalus, 1973) y el plásmido CAM (Rheinwald *et al.*, 1973) que codifican genes del catabolismo de toluenos/xilenos, naftaleno y alcanfor, respectivamente. Además también posee en el cromosoma genes de rutas para el catabolismo de diversos compuestos orgánicos.

La estirpe KT2440 de *P. putida* proviene de *P. arvilla* estirpe mt-2, aislada en Japón y curada del plásmido TOL pWWO, que le permite usar 3-metilbenzoato como única fuente de carbono (Bagdasarian *et al.*, 1981, Nakazawa, 2002, Williams & Murray, 1974). La estirpe KT2440 se considera un microorganismo GRAS (*Generally Recognized as Safe*) y por ello es utilizada como un modelo seguro e inocuo de bacteria medioambiental, a diferencia de otras *Pseudomonas* patógenas. En esta tesis se ha empleado la estirpe KT2442, que es una estirpe resistente a rifampicina derivada de KT2440. La resistencia a rifampicina implica una alteración de la subunidad beta de la RNA polimerasa (Jatsenko *et al.*, 2010). Ambas estirpes, KT2440 y KT2442 son usadas frecuentemente para el análisis,

clonación y manipulación de genes de bacterias de suelo, particularmente genes que codifican enzimas que degradan hidrocarburos y xenobióticos aromáticos.

1.1.2. La regulación de la expresión génica en *Pseudomonas*

Las bacterias del género *Pseudomonas* muestran una extraordinaria versatilidad nutricional que les permite utilizar una amplia variedad de moléculas como nutrientes. Prueba de ello es su peculiar habilidad de degradar y utilizar una gran variedad de contaminantes orgánicos, incluyendo compuestos recalcitrantes producidos por humanos en las últimas décadas. La explicación para esta extraordinaria flexibilidad reside no solo en la presencia de genes estructurales en su genoma sino también en la existencia de una gran variedad de sistemas reguladores que detectan las condiciones externas y ajustan la fisiología celular en función de las mismas (Cases *et al.*, 2003a).

Aproximadamente un 10% de los genes de *P. putida* codifican productos que participan en la transducción de señales y en la regulación de la expresión génica. Las proteínas de transducción de señales más abundantes en *Pseudomonas* son aquellas con dominios histidina-quinasa (HK), siendo un 50% de las proteínas con actividad sensora. Estas proteínas además coinciden en número con los reguladores de respuesta (RR) correspondientes presentes en cada especie (Tabla 1).

Estirpe	Número de proteínas de transducción de señales											
	HisK	MCP	GGDEF	GGDEF + EAL	EAL	HD-GYP	ACI	AC3	STYK	PP2C	RRs	Todos
<i>P. aeruginosa</i>	63	26	17	16	6	3	1	1	8	6	64	210
<i>P. entomophila</i>	61	32	19	19	2		1		6	4	64	208
<i>P. fluorescens</i>	80	42	21	19	10	4	1		5	3	78	263
<i>P. mendocina</i>	51	30	28	20	4	6	1	1	5	6	52	204
<i>P. putida</i>	67	27	19	17	3	2	1		5	3	67	211
<i>P. stutzeri</i>	66	22	19	14	3	2	1	1	6	7	47	199
<i>P. syringae</i>	69	48	16	19	2	1	1		6	4	63	231
<i>E. coli</i>	30	5	12	7	10		1		2		32	99

Tabla 1. Clasificación de proteínas de transducción de señales en distintas bacterias.

Se representan las proteínas sensoras clasificadas en distintas categorías. **HisK**: histidina-quinasa; **MCP**: methyl-accepting chemotaxis protein; **GGDEF**: dominio con actividad diguanilato ciclasa; **GGDEF+EAL**: dominios GGDEF+EAL presentes; **EAL**: dominio con actividad fosfodiesterasa; **HD-GYP**; **AC1**: dominio actividad adenilato ciclasa tipo I; **AC3**: dominio de actividad diguanilato ciclasa tipo III; **STYK**: dominio serina/treonina-proteína quinasa; **PP2C**: dominio con actividad fosfatasa; **RRs**: reguladores de respuesta; **Todos**: suma de proteínas sensoras+reguladores respuesta. Modificado de (Galperin, 2010).

Los RR más numerosos en *Pseudomonas* son los que tienen dominios de unión a DNA, que representan entre un 67-77% del total (Galperin, 2005). Si se hace este mismo análisis en *E. coli*, el número de proteínas de transducción de la señal y de RR es considerablemente más bajo. Estas diferencias reflejan una mayor complejidad en las rutas de señalización en *Pseudomonas* que en enterobacterias, y por tanto un enorme potencial de adaptabilidad a distintas condiciones metabólicas, fisiológicas y ambientales y, en definitiva, de su versatilidad (Galperin, 2010) (Tabla 1).

Los continuos cambios en el medio ambiente han dado lugar a la evolución de rutas de señalización que producen respuestas rápidas y potentes, y que permiten la supervivencia de la bacteria mediante un proceso de adaptación (Whitworth & Cock, 2009). Dentro de los reguladores de respuesta, muchos de ellos pertenecen a sistemas de dos componentes (TCS). Además, el número de TCS presentes en un genoma suele correlacionar con la complejidad en el estilo de vida y lo cambiante que sea el entorno en el que se encuentra el organismo. Se ha establecido una correlación entre la variabilidad de las condiciones externas y la sofisticación en los mecanismos reguladores que controlan la adaptación de ciertos microorganismos (Galperin, 2005). Normalmente, los parásitos intracelulares y otros microorganismos que habitan nichos estables codifican escasos sistemas de señalización relativamente primitivos, mientras que los microorganismos ambientales obligados a adaptarse a cambios externos suelen poseer muchos sistemas sofisticados de detección y transducción de señales.

1.2. Los sistemas reguladores de dos componentes (TCS)

La capacidad de adaptación a distintas condiciones externas puede considerarse un mecanismo de supervivencia para los microorganismos, ya que ajustan su fisiología y comportamiento en función de la señal detectada. Detrás de estas respuestas adaptativas subyace una red compleja de sensores ambientales y reguladores de respuesta. Los genes que codifican sistemas de dos componentes (TCS) se agrupan con frecuencia en operones, y están basados en un mecanismo modular simple controlado por reacciones de transferencia de fosfatos, que permiten respuestas de adaptación a un gran número de estímulos ambientales (Mascher *et al.*, 2006).

1.2.1. Sistema de transmisión de señales por transferencia de fosfatos

Los sistemas de señalización más sencillos consisten normalmente en una proteína sensora unida a la membrana que monitoriza algún parámetro medioambiental y un regulador de respuesta citoplasmático que media alguna respuesta adaptativa, normalmente reflejado como un cambio en la expresión génica (Parkinson, 1993) (Figura 1). Por lo general, funcionan como una serie de dominios de entrada y salida de la señal en diferentes configuraciones para crear circuitos de transmisión distintos (Parkinson & Kofoed, 1992).

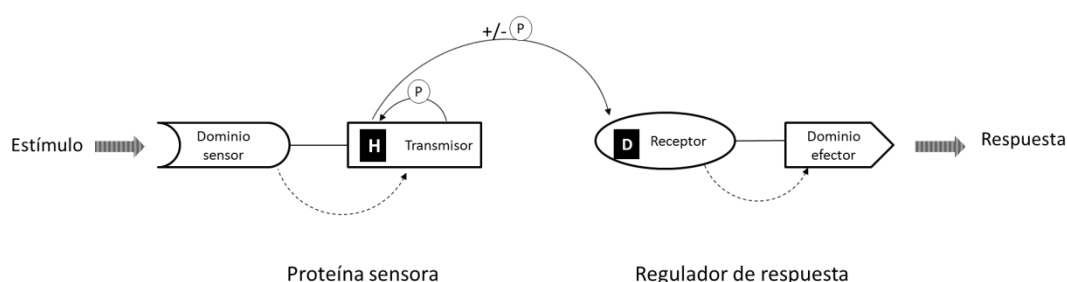


Figura 1. Esquema de un sistema de dos componentes típico. Se presentan los elementos de los sistemas de dos componentes de la señalización bacteriana. La información de la señal detectada fluye a través de dominios (flechas discontinuas) y mediante reacciones de fosforilación (flechas continuas) implicando los residuos de histidina (H) y aspártico (D). Los signos +/- indican las dos posibles vías de control del elemento regulador mediadas por la proteína sensora: actividad kinasa (+) o fosfatasa (-).

Los elementos encargados de transmitir la señal controlan la actividad del elemento regulador de dos formas; 1) mediante autofosforilación de un residuo de histidina conservado entre los componentes de esta familia a través de una reacción reversible, que genera un intermediario de alta energía, y que a su vez transfiere el grupo fosfato a un residuo de aspártico en el regulador de respuesta (Hess *et al.*, 1988, Ninfa & Bennett, 1991, Sanders *et al.*, 1992), y 2) mediante la actividad fosfatasa que muchos transmisores tienen respecto a sus receptores para devolver el sistema a su estado anterior al estímulo (Ninfa & Magasanik, 1986). La señal recibida modula la interacción de estas dos actividades de transmisión para regular el flujo de grupos fosfatos desde y hacia los receptores (Figura 1).

La actividad fosfatasa puede ser una propiedad intrínseca del RR (autofosfatasa) o una actividad fosfatasa mediada por la propia quinasa que lo fosforila. Algunas quinasas muestran también actividad fosfatasa hacia su propio grupo His-P y algunos RR transfieren su grupo fosfato a su correspondiente histidina quinasa (Dutta & Inouye, 1996). La información recopilada en la bibliografía muestra de una forma cada vez más evidente, que los sistemas de señalización celular normalmente no son tan simples, sino que presentan componentes múltiples, interconexiones con otros circuitos reguladores, y circuitos de retroalimentación u otras propiedades de complejos de señalización (Parkinson & Kofoed, 1992).

1.2.2. Proteínas sensoras

Las proteínas histidina quinasa (HKs) son una amplia familia de enzimas de transducción de señales que se activan por autofosforilación de un residuo de histidina conservado, y que a su vez transfieren el grupo fosfato a un residuo de aspártico localizado en el elemento regulador de la respuesta (RR). Todas las HK catalizan la transferencia de fosfato desde ATP a un residuo de histidina único, y tienen un dominio catalítico de unión a ATP que se requiere para la actividad quinasa. Este dominio catalítico junto con el dominio de dimerización, forman el núcleo quinasa (Wolanin *et al.*, 2002). Se han descrito diferentes métodos de transferencia de fosfatos entre las HKs y los RRs (Krell *et al.*, 2010):

- a) Fosforilación directa entre el dominio autoquinasa de la HK y el dominio receptor del RR, tipo PhoQ/PhoP.
- b) *Phosphorelay* (reacciones múltiples de transferencia de fosfatos). Este mecanismo ofrece la posibilidad de regular reacciones individuales de transferencia de fosfatos en función de diversos estímulos ambientales. Como consecuencia, diferentes señales pueden definir la respuesta regulatoria. Algunos ejemplos son:
 - tipo ArcB/ArcA. La transferencia de fosfatos implica un dominio autoquinasa, un dominio receptor interno en el RR y un dominio HPT (*histidine containing phosphotransfer*) que se fosforila con anterioridad al RR.

- tipo TodS/TodT. Es un mecanismo similar al anterior pero en el que intervienen dos dominios autoquinasa con actividades parecidas salvo que el dominio N-terminal es el que se estimula por unión de una señal.
- tipo KinA/Spo0F/Spo0B/Spo0A. La transferencia de fosfatos se produce entre varias proteínas independientes.

Las proteínas HKs pueden clasificarse basándose en diferentes criterios como es la organización o la topología de sus dominios (Dutta *et al.*, 1999, Krell *et al.*, 2010). Atendiendo a la localización y funcionalidad de sus dominios (aspectos importantes para el desarrollo de esta tesis) se pueden establecer tres grupos principales (Mascher *et al.*, 2006): 1) HKs periplásmicas o extracelulares, 2) HKs en las que la señal se detecta a través de hélices transmembrana y 3) HK sensoras citoplasmáticas (Figura 2).

- 1) HKs periplásmicas o extracelulares: es el grupo más extenso e incluye proteínas con un dominio sensor extracelular unido a al menos dos hélices transmembrana (TM). Dado que el dominio quinasa está localizado en el citoplasma los dominios sensor y quinasa están localizados en dos compartimentos celulares diferentes separados por una membrana, requiriendo la transducción de la señal por los dominios TM. Este tipo de topología de membrana es típica para la detección de solutos y nutrientes.
- 2) HKs en las que la señal se detecta a través de hélices transmembrana. El aspecto unificador de este grupo heterogéneo es la presencia de 2 a 20 regiones transmembrana implicadas en la detección de la señal. Estas regiones TM están conectadas por uniones muy cortas intra- o extracelulares de modo que por ejemplo estos sensores no tienen un dominio extracelular que pueda detectar la señal muy evidente. Por tanto el estímulo detectado es o asociado con la membrana u ocurre directamente en la interfaz de la membrana. La detección de la señal suele estar relacionada con la integridad de la membrana celular, y están implicados gradientes de iones o electroquímicos, procesos de transporte y *quorum sensing*.
- 3) HK sensoras citoplasmáticas: incluye tanto proteínas ancladas a la membrana como solubles con sus dominios de detección de la señal dentro del citoplasma. Esta clase de proteínas detectan la presencia de solutos citoplasmáticos o de proteínas señalizando el estado metabólico o de

desarrollo de la célula. Otras responden a estímulos difusibles o internos, como O₂ o H₂ o estímulos transmitidos por sensores TM.

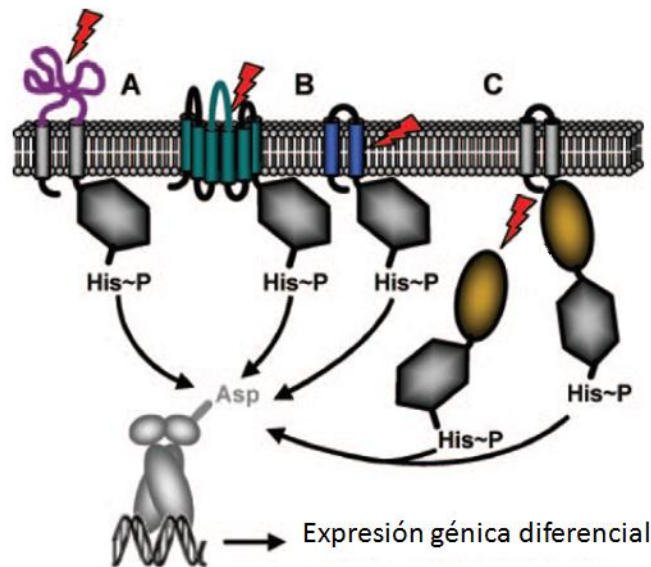


Figura 2. Representación esquemática de los tres mecanismos de recepción de la señal. **A)** HKs sensoras de periplasma. **B)** HKs con mecanismos sensores en la región transmembrana (la recepción de la señal puede ocurrir en las hélices transmembrana solo o en combinación con la región transmembrana y lazos cortos extracelulares). **C)** HKs sensoras de citoplasma (solubles o ancladas a la membrana). El estímulo se representa con un rayo en rojo. Las partes de las proteínas involucradas en la recepción de la señal están coloreadas. Modificado de (Mascher et al., 2006).

1.2.3. Elementos reguladores de respuesta (RR)

Los reguladores de respuesta (RRs) de los sistemas de dos componentes tienen en común un dominio fosforeceptor tipo CheY (dominio REC) que cataliza la transferencia del fosfato proveniente de la proteína sensora. La fosforilación provoca un cambio conformacional en una de las caras del dominio receptor provocando una respuesta (Gao *et al.*, 2007). En los reguladores de respuesta de un solo dominio el cambio conformacional en el dominio receptor conlleva una respuesta directa de la proteína. Sin embargo, la mayoría de reguladores de respuesta, contienen un dominio efector asociado el cual promueve los cambios transcripcionales (Figura 1). Aproximadamente un 14 % de

los RRs en procariotas consisten en un dominio receptor REC único. Los restantes pueden clasificarse según la similitud de secuencia de sus dominios efectores (Figura 3). Los RRs asociados a dominios de unión a DNA son la subfamilia más numerosa y constituyen un 65 % del total. El resto de subfamilias incluyen dominios con actividad enzimática (11%) y otros (dominios de unión a proteínas (2%), dominios de unión a RNA (1%), etc) (Galperin, 2006).

Los dominios de unión a DNA más abundantes son los del tipo HTH (hélice-giro-hélice, tipo NarL) o wHTH (HTH winged, tipo OmpR). Es también común encontrar el dominio Fis (*factor of inversion stimulation*) en estos reguladores, fusionado directamente al dominio REC o asociado a un dominio adicional AAA ATPasa (tipo NtrC). Además de éstas, existe una amplísima variedad de combinaciones con el dominio REC, incluyendo casos en los que el dominio HTH ocupa la posición N-terminal de la proteína.

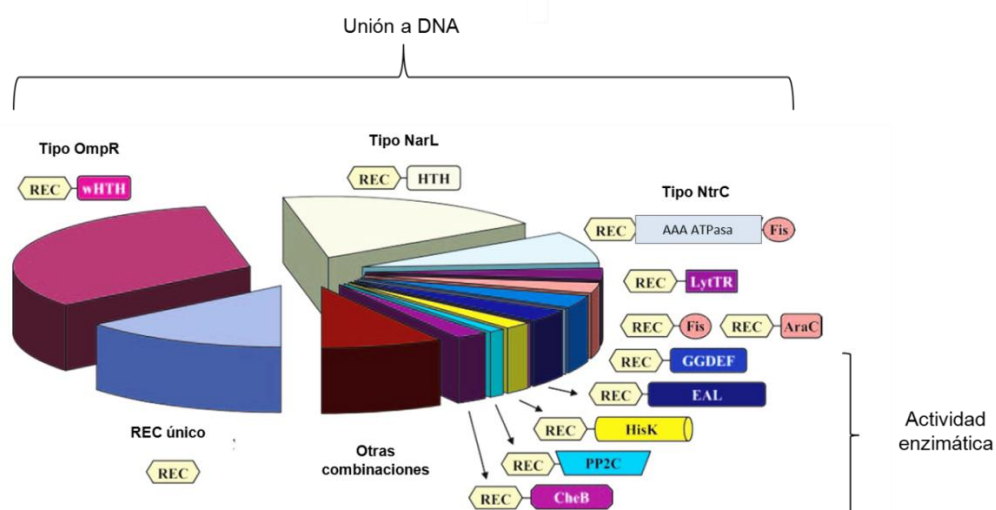


Figura 3. Clasificación de reguladores de respuesta más comunes en bacterias. La clasificación se hizo según la similitud de secuencia en los dominios efectores de respuesta. Los sectores representan la abundancia de cada tipo de regulador de respuesta unificando datos de ~9000 especies analizadas. CheB, metilesterasa / deamidasa de quimiotaxis; EAL, dominio c-di-GMP fosfodiesterasa (que contiene un motivo EAL); FIS, subfamilia HTH representada por la proteína FIS (Factor for Inversion Stimulation); GGDEF, dominio diguanilato ciclasa (conteniendo un motivo GGDEF); HisK, dominio histidina quinasa; HTH, familia de unión a DNA con un motivo HTH; AraC, subfamilia HTH representada por AraC (arabinosa operon regulador); LytTR, familia de unión a DNA representada por LytR; NarL, regulador de respuesta por nitrato y nitrito; NtrC, regulador de la utilización de nitrógeno; OmpR, proteína osmorreguladora; PP2C, familia con un dominio conservado representada por la fosfatasa proteica 2C. Modificado de (Galperin, 2006).

1.3. Sistemas de dos componentes activadores de promotores dependientes de σ^N

La iniciación de la transcripción es un proceso complejo que comprende muchos pasos diferentes. Estos pasos representan puntos de control importantes para la regulación de la expresión génica, y muchos de ellos han sido utilizados por las bacterias para dar lugar a sofisticados mecanismos reguladores que le permiten una correcta adaptación a distintas condiciones de crecimiento. Para poder iniciar la transcripción desde un promotor de DNA específico, la RNA polimerasa (RNAP) debe pasar desde la configuración $\alpha_2\beta\beta'\omega$ (denominado núcleo de la polimerasa) a una conformación $\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$ (holoenzima) combinándose con una subunidad sigma dissociable que le proporciona una especificidad por el promotor (Buck *et al.*, 2000). El repertorio de factores sigma alternativos que la bacteria utiliza para coordinar respuestas adaptativas a los cambios celulares varía ampliamente entre diferentes especies y generalmente refleja el tipo de vida de la bacteria (Kill *et al.*, 2005).

Los factores sigma de la RNAP pueden agruparse en dos clases atendiendo a criterios estructurales y funcionales; la familia tipo σ^{70} , constituida por distintos tipos de factores sigmas, y un segundo grupo con un único tipo de factor sigma, σ^N (o σ^{54}) (Lonetto *et al.*, 1992). Dentro de la familia σ^{70} se incluyen factores similares al factor σ vegetativo de la bacteria, σ^{70} , como son σ^S (respuesta a estrés), σ^{32} (plegamiento erróneo de proteínas) o σ^F (síntesis del flagelo) (Paget & Helmann, 2003). La holoenzima con un factor tipo σ^{70} reconoce y se une a unas secuencias conservadas en el promotor centradas en las posiciones -35 y -10 respecto al inicio de transcripción (Dominguez-Cuevas & Marqués, 2004). La regulación en este tipo de promotores suele tener lugar en el proceso de reclutamiento y estabilización de la RNA polimerasa en el promotor, y pueden intervenir en este punto proteínas activadoras o represoras de la transcripción (Browning & Busby, 2004).

La clase σ^N difiere de la familia σ^{70} tanto en la secuencia de aminoácidos como en el mecanismo de iniciar la transcripción (Merrick, 1993). La mayoría de las bacterias tienen diferentes factores sigma pertenecientes a la clase σ^{70} , pero no es habitual encontrar más de un tipo de σ^N (codificado por el gen *rpoN*) en el mismo organismo (Buck *et al.*, 2000). El factor σ^N reconoce diferentes secuencias promotoras, normalmente localizadas en las posiciones -24 y -12 relativas al sitio de inicio de la transcripción +1, cuya secuencia consenso es TGGCAC(A/G)-N₄-TTGC(A/T) (Barrios *et al.*, 1999). Una

característica esencial del complejo RNA polimerasa- σ^N (RNAP- σ^N) que difiere de otras holoenzimas es su incapacidad, por si sola, de abrir (isomerizar) espontáneamente el DNA de doble cadena para formar el complejo abierto en el promotor requerido para iniciar la transcripción. Para ello, requiere estrictamente la asistencia de activadores transcripcionales que utilizan la hidrólisis de ATP para llevar a cabo los cambios conformacionales esenciales para esta transición (Zhang *et al.*, 2002, Wigneshweraraj *et al.*, 2008). Estos activadores se unen al DNA entre 80 a 150 nt aguas arriba del promotor que controlan y contactan la RNAP- σ^N estableciendo un lazo en el DNA, proceso que es a menudo facilitado por la proteína IHF (*Integration Host Factor*) que contribuye a la curvatura en el DNA (Figura 4). La activación de la transcripción a distancia por unión a elementos tipo *enhancer*, también conocidos como UASs (*Upstream Activating Sequences*), que en algunas ocasiones pueden aun funcionar a varias kilobases de distancia (Reitzer & Magasanik, 1986) y el requerimiento de una fuerza mecánica generada tras la hidrólisis de ATP, establece analogías con la RNAP II de sistemas eucariotas, haciendo que comúnmente se denomine a estos activadores bacterianos EBPs (*Enhancer Binding Proteins*).

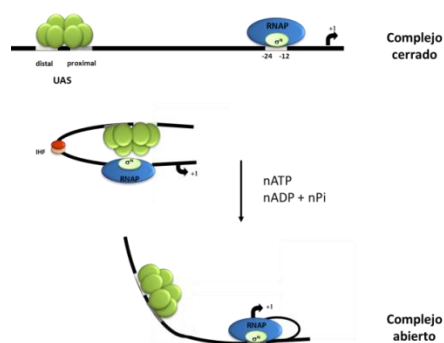


Figura 4. Esquema del modo activación de un promotor tipo σ^N . Se muestra la región promotora reconocida por la RNA polimerasa con el factor σ^N con sus cajas conservadas -24 y -12 y los sitios de unión del activador UAS. Arriba, la RNAP- σ^N y el activador tipo EBP se unen al promotor y forman el complejo cerrado en el cual el DNA permanece en forma de doble cadena. Centro, el activador fosforilado contacta la RNAP- σ^N formando un lazo en el DNA. IHF estabiliza el doblez en el DNA. Abajo, en una reacción que requiere la hidrólisis de ATP, el activador cataliza la isomerización del complejo cerrado entre la polimerasa y el promotor a complejo abierto, de forma que el DNA circundante al sitio de inicio de la transcripción (+1) se desnatura y una de las hebras de DNA se usa como molde. Modificado de (Wyman *et al.*, 1997).

1.3.1. NtrC como paradigma de RR de promotores dependientes de σ^N

El mecanismo de activación de los RR de promotores dependientes de σ^N se lleva a cabo de una forma muy conservada, aunque la interacción entre el dominio receptor y efector está altamente diversificada a causa de la enorme variedad de dominios efectores con distintas estructuras y funciones (Gao et al., 2007). El regulador de respuesta NtrC es el paradigma de regulador transcripcional de promotores dependientes de σ^N . En la regulación positiva observada en algunos RR como NtrC, la fosforilación del dominio receptor promueve la dimerización u oligomerización del RR para regular la transcripción (Wyman et al., 1997). Las proteínas de la familia NtrC, se caracterizan por la presencia de un dominio central AAA ATPasa localizado entre el dominio receptor y el dominio de unión a DNA HTH (Figura 5). La función del dominio ATPasa es la de inducir la formación del complejo abierto en el complejo RNAP- σ^N en una reacción dependiente de ATP, y el dominio de unión a DNA dirige esta actividad a un promotor concreto. La actividad ATPasa requiere la oligomerización del dominio AAA ATPasa en una estructura en forma de anillo que está regulada por el dominio receptor. El dominio ATPasa en sí mismo tiene una actividad ATPasa escasa, y es la fosforilación la que provoca los cambios conformacionales que permiten al dominio receptor de una subunidad ponerse en contacto con el dominio ATPasa de otra subunidad, estabilizando la estructura en forma de anillo y promoviendo la actividad ATPasa (De Carlo et al., 2006) (Figura 5).

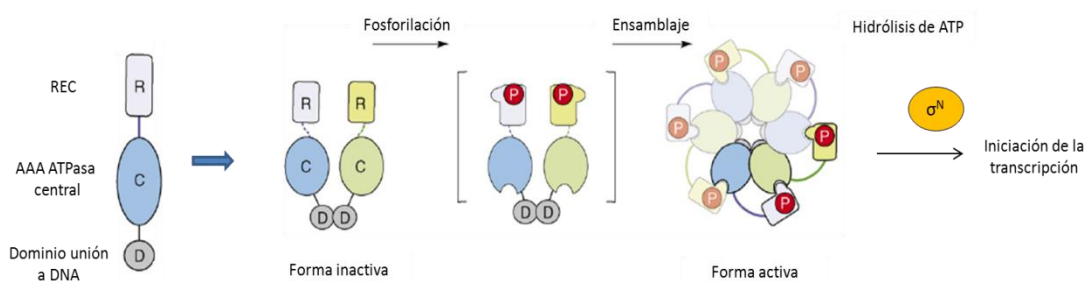


Figura 5. Mecanismo de activación de los reguladores de respuesta tipo NtrC. Se muestra como la fosforilación del dominio receptor (REC) conlleva un cambio conformacional que permite el ensamblaje de diferentes subunidades, cambio necesario para la hidrólisis de ATP e iniciación de la transcripción. Mientras algunos dímeros de NtrC se unen directamente al DNA, otros se unen únicamente mediante interacciones proteína-proteína (Wyman et al., 1997). Modificado de (Gao et al., 2007).

El papel regulador del sistema NtrBC en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno en *P. putida* ha sido caracterizado en detalle en nuestro laboratorio, actuando tanto como proteína activadora de promotores dependientes de σ^N (Hervas *et al.*, 2008, Hervas *et al.*, 2009) como elemento represor en otros dependientes de σ^{70} . En este último caso, la represión mediada por NtrC de *gdhA* en condiciones de limitación de nitrógeno no depende del estado de fosforilación del regulador sino de la dosis de NtrC en esas condiciones (Hervas *et al.*, 2010).

1.4. El sistema de dos componentes CbrAB

El sistema de dos componentes CbrAB es un sistema exclusivo de las *Pseudomonas* y no se han identificado ortólogos en otras familias. Dado que esta familia de las γ -proteobacterias se caracteriza por su versatilidad y capacidad de adaptación, es posible que este sistema les aporte alguna ventaja adaptativa, que no contienen otras familias bacterianas. El sistema regulador CbrAB, se describió por primera vez en el año 2001 en *P. aeruginosa* como un sistema implicado en la utilización de diferentes fuentes de carbono (aminoácidos como arginina, histidina o prolina u otras como manitol, glucosa, piruvato o citrato). Además se mostró que *cbrA* y *cbrB* se transcribían en unidades transcripcionales distintas. La señal activadora del sistema no ha sido identificada hasta la fecha, aunque los autores ya sugerían que podría estar relacionada con el equilibrio C-N (Nishijyo *et al.*, 2001).

El TCS CbrA/CbrB presenta una identidad de un 34 y un 45 % en la secuencia de aminoácidos respectivamente con el bien caracterizado sistema NtrB/NtrC,. Se ha descrito que alelos constitutivos de *ntrB* y *ntrC* eran capaces de suprimir el fenotipo de un mutante *cbr* en *P. aeruginosa*, sugiriendo que ambos sistemas de dos componentes podrían solapar funcionalmente (Li & Lu, 2007, Itoh *et al.*, 2007). En nuestro laboratorio, se ha caracterizado la utilización de diversos compuestos como fuente de carbono y/o nitrógeno en *P. putida* y se ha estudiado la posible acción coordinada de los sistemas CbrAB y NtrBC en el catabolismo de ciertos aminoácidos (ver más adelante el epígrafe 1.4.3 control global por CbrB) (Amador *et al.*, 2010).

1.4.1. La proteína HK sensora CbrA

A diferencia de NtrB de *E. coli* o *P. putida*, que son proteínas citosólicas, la proteína sensora CbrA tiene una serie de dominios TM que la mantienen anclada a la membrana periplásmica y formaría parte de las HKs con mecanismos sensores en la región transmembrana (Mascher et al., 2006). En *P. putida*, CbrA presenta diferentes dominios conservados: a) dominios transmembrana (tipo PutP), b) dominio PAS, c) dominio HisKA y d) dominio HATPasa (Figura 6):

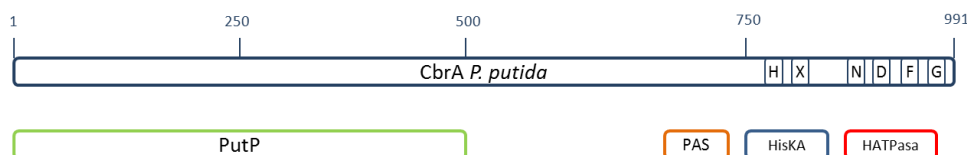


Figura 6. Representación esquemática de los dominios conservados en CbrA de *P. putida*. Arriba, CbrA con las posibles cajas conservadas en el dominio transmisor de la parte carboxilo (H, X, N, D, F, G). Los números representan la posición de los aminoácidos de la proteína respecto al ATG. Abajo, se representan los dominios que presentan homología con CbrA: simportadores tipo PutP en la parte N-terminal y dominios PAS, HisKA y HATPasa en la C-terminal.

- a) Dominios transmembrana: Nishijyo y col (Nishijyo et al., 2001) describieron inicialmente a CbrA como una proteína con 12 dominios TM según la predicción de dominios transmembrana DAS *transmembrane prediction* (Cserzo et al., 1997), aunque el número de dominios puede variar ligeramente en función del programa de análisis, ya que el programa SOSUI (http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/sosui_submit.html) identifica un total de 14 dominios TM en *P. aeruginosa* y 13 en *P. putida*, según su secuencia de aminoácidos

Los dominios sensores de CbrA y sus homólogos muestran un grado de conservación significativo en las regiones transmembrana y los lazos conectores. Estos dominios son homólogos a los simportadores de Na⁺/solutos (dominio SSSF) como PutP o PanF de *E.coli* (Hase et al., 2001, Jung, 2002) (Figura 6). Esta clase de transportadores usa la energía libre obtenida mediante los gradientes electroquímicos para mediar la entrada de solutos, incluyendo prolina (PutP) y pantofenato (PanF) (Jung, 2001).

- b) Dominio PAS: la recepción de la señal en las HKs de los sistemas de dos componentes está mediada en ocasiones por los dominios PAS (su nombre proviene de las siglas de tres proteínas que los poseen Per, Arnt y Sim). Los dominios PAS se presentan en todos los reinos de la naturaleza y son capaces de detectar un amplio rango de estímulos. Forman un pliegue α/β con una baja conservación en su secuencia lo que dificulta su anotación. Los dominios PAS incorporan señales a través de diversos mecanismos. Los más frecuentes son (a) unión de la señal a una cavidad del dominio PAS (tipo CitA o TodS), (b) recepción de la señal por cofactores (como FAD, FMN, hemo) que se hallan unidos a la cavidad central de los dominios PAS (tipo FixL o NifL), (c) unión de la señal en la interfase dominio PAS-membrana (tipo PhoQ) y (d) modulación de los puentes disulfuro entre dominios PAS (tipo ArcB) (Krell et al., 2010). En el caso de CbrA, la parte carboxilo terminal presenta un 34% de identidad con NtrB de *E. coli* y otras histidinas quinasa de la familia y posee también un posible dominio PAS. No se ha encontrado ninguna función específica en el reconocimiento de la señal en el dominio PAS de NtrB.
- c) Dominio HisKA: también llamado DHp (*dimerization e histidine fosfotransfer*) es el más variable e incluye el residuo de histidina, H (en el aminoácido 766 en *cbrA*) necesario para la autofosforilación. Además, este dominio suele contener dos hélices alfa (caja X) que es el dominio de dimerización de la proteína.
- d) Dominio HATPasa: es el dominio que cataliza la autofosforilación de la HK. Este dominio alberga los bloques D y G (también llamados G1 y G2) que se asemejan a dominios de unión de nucleótidos ricos en glicina (Rossmann *et al.*, 1974). Se encuentran separados por un espaciador de longitud y composición variable con el bloque F en su mitad. Mutaciones en los bloques N, D o G eliminan la actividad autoquinasa (Kanamaru *et al.*, 1989) (Yang & Inouye, 1993) mientras que algunas mutaciones en N y D mantienen la actividad fosfatasa (Yang & Inouye, 1993), por lo que se deduce que los bloques N y D no están implicados en esa función.

1.4.2. El elemento regulador CbrB

La proteína CbrB en *P. aeruginosa* presenta un 45% de identidad con reguladores de respuesta de la familia de NtrC (Morett & Segovia, 1993). La proteína ortóloga de *P. putida* presenta igualmente tres dominios conservados; el dominio receptor (REC) en la parte N-terminal, que recibe la señal de la proteína sensora y es el que determina la

especificidad de la proteína, el dominio central contiene la actividad ATPasa y presenta una alta conservación (un 56% de identidad) con el de NtrC, y el dominio HTH en el extremo carboxilo terminal, mediante el que se une al DNA (Figura 7) (Sasse-Dwight & Gralla, 1988, North *et al.*, 1993). En el dominio REC se localiza el residuo de aspártico en la posición 55 susceptible de fosforilación por la HK, que corresponde al Asp-54 de NtrC. Este dominio además presenta los motivos de unión de nucleótidos Walker A (GESGTGKE) y Walker B (ADGGTLFLDE) en las posiciones 180-187 y 243-252 respectivamente.

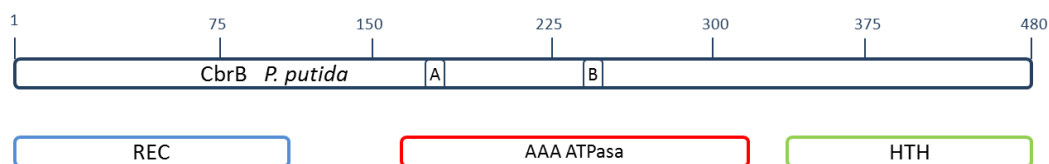


Figura 7. Representación esquemática de los dominios conservados en CbrB de *P. putida*. Arriba, CbrB con los dominios Walker A y Walker B. Los números representan la posición de los aminoácidos de la proteína respecto al ATG. Abajo, se representan los dominios que presentan homología con CbrB: dominio receptor de la señal REC en la parte N-terminal, dominio AAA ATPasa en la parte central y dominio de unión a DNA HTH en la parte C-terminal.

1.4.3. Control global por CbrB

Hasta la fecha, se ha descrito que la utilización de algunos aminoácidos y otras fuentes de carbono se encuentra regulada por CbrB en distintas especies de *Pseudomonas* (Li & Lu, 2007, Nishijyo *et al.*, 2001, Zhang & Rainey, 2007, Zhang & Rainey, 2008, Amador *et al.*, 2010). En *P. fluorescens* SBW25 se postuló que cuando la histidina era la única fuente de carbono, el operón de utilización de histidina (*hut*) era activado por CbrB desde un promotor dependiente de σ^N , mientras que cuando se empleaba como fuente de nitrógeno el promotor era dependiente de σ^{70} y podía ser activado por CbrB o NtrC (Zhang & Rainey, 2008). Sin embargo, y dado que NtrC es un activador transcripcional de promotores dependientes de σ^N , parecería razonable decir que la regulación de CbrB/NtrC sobre ese promotor podría ser ejercida de forma indirecta. Además, en *P. aeruginosa* se describieron alelos constitutivos de *ntrB* y *ntrC* que suprimían el defecto de crecimiento de un doble mutante $\Delta cbrAB$ en distintos aminoácidos

(arginina, histidina, ornitina y prolina), sugiriendo que algunas dianas podrían estar sujetas a un doble control por CbrAB y NtrBC (Li & Lu, 2007).

Además, en *P. fluorescens* SBW25, se ha descrito que CbrB parece controlar la expresión de *pcnB*, que codifica una polyA polimerasa, y que se encuentra localizado aguas abajo de *cbrB* (Zhang *et al.*, 2010). Dado que la poly(A) polimerasa PcnB podría regular la estabilidad del mRNA y que CbrB es un regulador transcripcional global para la utilización de nutrientes, se sugiere que el sistema CbrAB podría participar en la coordinación transcripcional de genes catabólicos y la tasa de degradación de transcritos. La expresión de *pcnB* depende de un promotor σ^{70} , por lo que, si existe una regulación de *pcnB* por parte de CbrB, probablemente será de forma indirecta a través de un activador no identificado.

En nuestro laboratorio, se analizó el patrón de expresión global de CbrB mediante el uso de *microarrays* en un medio definido que contenía una mezcla de los 21 aminoácidos (incluyendo ornitina) a una concentración de 0,6 mM durante las 7 primeras horas de cultivo a 30 °C. Las rutas catabólicas de la mayoría de los aminoácidos están sujetas a una inducción específica y es necesaria la presencia del sustrato para que la ruta se encuentre activa, por tanto, estas condiciones de crecimiento garantizaban la posible activación específica descrita para las rutas de asimilación de algunos aminoácidos en *P. putida*. Los resultados del análisis transcriptómico mostraron la expresión diferencial de 91 genes, de los cuales 40 tenían una expresión más alta en el mutante *cbrB* y 51 genes tenían una expresión más alta en la estirpe silvestre (Amador *et al.*, 2010). Los autores mostraron que CbrB controla no solo el transporte y/o la utilización de varios aminoácidos como fuente de carbono y/o nitrógeno, sino también una amplia variedad de funciones no relacionadas, como quimiotaxis, tolerancia a estrés o resistencia a metales pesados como cobre o zinc. Algunos de los datos de transcriptómica fueron validados mediante RT-qPCR pero con esta aproximación no se podía descartar que la regulación tuviese lugar de forma indirecta.

Se ha descrito también la regulación por parte de CbrB de genes diana que codifican RNAs pequeños en *P.aeruginosa* (CrcZ) (Sonnleitner *et al.*, 2009), y en *P. putida* (CrcZ y CrcY) (Moreno *et al.*, 2012). CrcZ y CrcY parecen interaccionar con Crc, la principal proteína responsable del proceso de represión catabólica en el género *Pseudomonas*, que actúa como un represor traduccional (Sonnleitner *et al.*, 2009, Rojo,

2010, Moreno et al., 2012), inhibiendo su función represora. Los mRNAs diana reprimidos por Crc contienen secuencias ricas en CA (AAnAAnAA) que Crc reconoce de forma específica en el extremo 5' de los mRNAs diana (Moreno et al., 2009). Además de *crcZ*, en *P. aeruginosa* se identificaron otros genes controlados por CbrB; *lipA*, *amiE* y *hutU*, que contienen secuencias de unión del factor σ^N de la RNAP. Con estos genes, los autores propusieron una secuencia consenso de unión de CbrB (cTGTTACc N_{3/12} cGTAACAg) (Abdou et al., 2011). Tanto *crcZ* como *crcY* en *P. putida* contienen la secuencia consenso de unión de CbrB, aunque con un espaciamiento de 14 y 29 nt, respectivamente. Además, en la estirpe *P. syringae* existe otro sRNA de características similares a *CrcZ* y *CrcY* llamado *CrcX*, que parece encontrarse únicamente en esta especie y al igual que *CrcY* presenta un espaciamiento de 29 nucleótidos entre las dos secuencias palindrómicas (Filiatrault et al., 2013).

La delección simultánea de *crcZ* y *crcY* en *P. putida*, provoca un efecto de represión catabólica en cualquier condición, aunque la delección de cada uno por separado no tiene un efecto significativo, lo que indica que pueden suplirse. Además, la superproducción de *crcZ* o *crcY*, reduce la represión, lo cual indica que son los principales responsables de la inactivación de Crc (Moreno et al., 2012). Recientemente se han identificado nuevas dianas del sistema CbrAB en *P. aeruginosa* que a su vez interaccionan con la proteína Crc (Sonnleitner et al., 2012). Estos genes están relacionados con el transporte y la utilización de fuentes de carbono no preferenciales: *estA* (esterasa), *acsA* (acetil-CoA sintetasa), *bkdR* (regulador del catabolismo de aminoácidos ramificados) y *aroP2* (proteína de transporte de aminoácidos aromáticos). La posible relación del sistema CbrAB con el fenómeno de represión catabólica se describe con más detalle en el apartado 1.5.

También se ha descrito la implicación de CbrB en la respuesta a estrés por bajas temperaturas en *P. putida* (Reva et al., 2006) y se ha demostrado a su vez que los niveles de los RNA pequeños *CrcZ* y *CrcY* eran considerablemente superiores cuando se sometía a la bacteria *P. putida* a un estrés por crecimiento a 10 °C (Fonseca et al., 2013).

Basados en estos resultados, se propone que el sistema CbrAB debe ser un elemento situado en una posición elevada en la jerarquía regulatoria y que controla directa o indirectamente una variedad de cambios metabólicos y de comportamiento requeridos para la adaptación a condiciones ambientales cambiantes.

1.5. Integración del sistema regulador CbrAB y la represión catabólica mediada por Crc

La Represión Catabólica (RC) es un proceso que garantiza la asimilación en primer lugar de aquellos compuestos que permitan un crecimiento eficiente, al reprimir el transporte y/o la expresión de los genes del metabolismo de compuestos no preferenciales (Gorke & Stulke, 2008, Rojo, 2010). La primera observación de represión catabólica en la bacteria *P. aeruginosa* fue realizada por Liu al comprobar que la adición de succinato o citrato bloqueaba la degradación de glucosa (Liu, 1952). Estudios posteriores en esta y otras *Pseudomonas* mostraron que intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico causaban represión catabólica de rutas de degradación de azúcares, aminoácidos y otras fuentes de carbono (Smyth & Clarke, 1975, Collier *et al.*, 1996, Rojo & Dinamarca, 2004).

La proteína Crc es el elemento principal en el proceso de RC en las *Pseudomonas*, y coordina la asimilación de diferentes fuentes de carbono preferenciales como ácidos orgánicos o aminoácidos. Esto lo realiza reprimiendo la asimilación de otras no preferenciales, como la glucosa. Las condiciones de máxima represión catabólica en *P. putida* observadas han sido en un medio rico LB (Moreno & Rojo, 2008, Moreno *et al.*, 2012). La represión ejercida por Crc ocurre a nivel post-transcripcional, ya que se une a regiones ricas en adenina localizadas en el extremo 5' de muchos mRNAs, e impidiendo la formación del complejo ternario 30S-tRNA^{Met}-RNA, y por lo tanto la traducción de los mismos (Rojo, 2010). Se ha propuesto que la represión traduccional promovida por Crc es antagonizada por los RNAs regulatorios CrcZ y CrcZ/CrcY en *P. aeruginosa* y *P. putida*, respectivamente. Estos RNAs poseen secuencias ricas en A a los que Crc se une, inhibiendo así su actividad represora (Sonnleitner *et al.*, 2009, Moreno *et al.*, 2012) (Figura 8). El hecho que CbrB active la expresión de RNAs reguladores que participan en la actividad del Crc es de especial relevancia ya que conecta dos procesos regulatorios en un principio no relacionados.

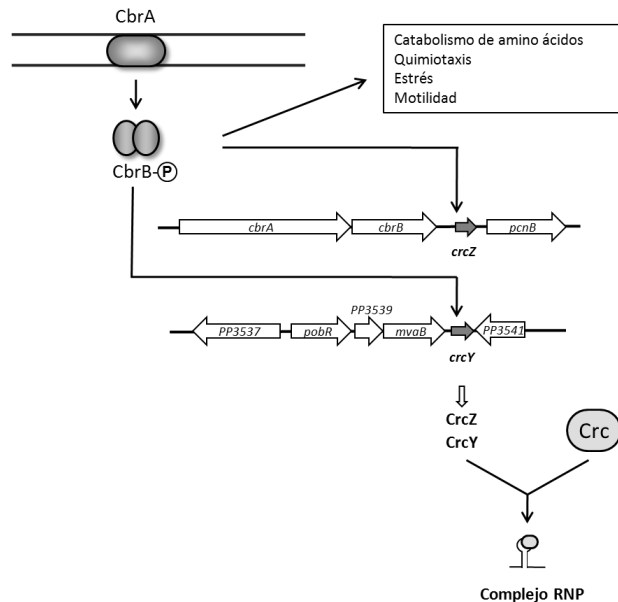


Figura 8. Ruta de regulación del sistema CbrAB en *Pseudomonas putida*. Representación esquemática del circuito regulatorio transcripcional mediado por CbrB en *P. putida*. CbrB controla la expresión de *crcZ* y *crcY* y de otros procesos celulares. CrcZ y CrcY secuestran Crc a través de la formación de un complejo ribonucleoproteína (RNP), impidiendo su función como represor traduccional. Modificado de (Garcia-Maurino *et al.*, 2013).

Recientemente se ha publicado un artículo que incorpora un nuevo elemento en el sistema de control por Crc (Milojevic *et al.*, 2013). Se ha visto que Hfq es capaz de unirse a las dianas descritas para Crc (AmiE y CrcZ), y que su unión se veía favorecida por la adición de cantidades crecientes de Crc (comunicación en el 14 Congreso Internacional de *Pseudomonas*, Fernando Rojo). Este dato muestra una posible colaboración entre ambas proteínas y por tanto la incorporación de un nuevo elemento en la cascada regulatoria de los pequeños RNAs.

Hfq es una proteína de unión a RNA que es común en diversos linajes de bacterias y presenta un papel esencial en el control de la expresión génica. Está considerada como el componente central de la red global post-transcripcional, en la cual facilita las interacciones cortas e imperfectas de los RNAs pequeños reguladores (sRNAs) con los mRNAs diana codificados en *trans* (Vogel & Luisi, 2011). Los sRNAs asociados con Hfq tienen diversos tamaños entre 50 y 250 nucleótidos y suelen plegarse en lazos en horquilla (Figura 9). La estructura común en lazos en horquilla en el extremo 3' de los

sRNAs, seguida de un extremo corto poli-U, es parte de un terminador transcripcional independiente de Rho y probablemente sirve para la función adicional de evitar el ataque por exonucleasas 3'. En algunas ocasiones, Hfq se une a regiones con una sola hebra ricas en AU aguas arriba del terminador (Geissmann & Touati, 2004), y esta unión podría exponer el dominio de unión de los sRNAs a los mRNA afines. A diferencia del alto grado de conservación del dominio de unión de Hfq en los mRNA (secuencia consenso AANAANAANAAN), el sitio de unión de Hfq en los sRNAs parece tener una conservación muy débil a nivel de nucleótidos y por tanto difícil de predecir (Vogel & Luisi, 2011).

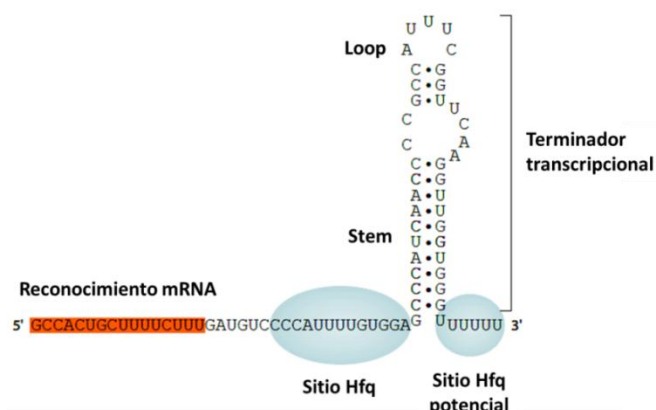


Figura 9. Representación de un RNA pequeño típico asociado a Hfq. Se muestran los dominios de un RNA pequeño mostrando la localización de la región de unión de Hfq y un sitio potencial de interacción de Hfq con la cola 3' poli-U. La región donde se da el reconocimiento de los mRNA diana se muestra en naranja y la estructura secundaria del terminador de la transcripción a la derecha. Hfq también protege regiones en la estructura terminadora del ataque de enzimas y químicos, sugiriendo que deben existir interacciones adicionales entre Hfq y el sRNA. Modificado de (Vogel & Luisi, 2011).

Hfq en *P. aeruginosa* regula un 5% de los transcritos de esta bacteria, muchos de ellos relacionados con procesos de *quorum sensing*. En concreto se ha demostrado que Hfq es capaz de unirse y estabilizar al sRNA RsmY, que se une a su vez al represor traduccional RsmA (Sonnleitner *et al.*, 2006). La colaboración entre Hfq y Crc en la unión a los mRNAs diana (CrcZ y CrcY entre ellos) y la relevancia en el proceso de represión catabólica es algo que queda por determinar. Independientemente de la forma de regulación, lo que ha quedado patente mediante diferentes estudios es que los niveles de los sRNAs en la célula son los que van finalmente a determinar el estado de represión catabólica global.

2. OBJETIVOS

1. Identificación de promotores diana directamente regulados por CbrB en *P. putida*
2. Caracterización molecular del control de CbrB sobre promotores diana seleccionados
3. Caracterización de los dominios estructurales de CbrA y análisis fenotípico de los mutantes en CbrA
4. Análisis metabolómico en distintas condiciones de activación del sistema CbrAB

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Estirpes, plásmidos, oligonucleótidos y condiciones de cultivo

3.1.1. Estirpes utilizadas en esta tesis.

Tabla 2. Tabla de estirpes.

Estirpe	Características relevantes	Referencia
<i>Escherichia coli</i>		
DH5α	Φ80 <i>dlacZΔM15(lacZYA-argF)</i> U169 <i>recA1 endA1 hsdR17</i> (<i>r_k⁻ m_k⁺</i>) <i>supE44 thi-1 gyrA relA1</i>	(Hanahan, 1983)
NCM631	<i>hsdS gal λDE3:lacI lacUV5:gen1</i> (RNA polimerasa de T7) <i>Δlac-Tn10</i>	(Govantes & Santero, 1996)
<i>Pseudomonas putida</i>		
KT2440	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>)	(Bagdasarian et al., 1981)
KT2440-IHF3	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>ihfA::Km</i>	(Marques et al., 1998)
KT2442	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r</i>	(Franklin et al., 1981)
MPO401	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r ΔcbrB::Km</i>	(Garcia-Maurino et al., 2013)
MPO413	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r ΔcbrA</i>	Esta tesis
MPO451	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r KT2442- pME6182</i>	Esta tesis
MPO453	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA- pME6182</i>	Esta tesis
MPO454	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-cbrA P. putida</i>	Esta tesis
MPO472	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-soluble</i>	Esta tesis
MPO473	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-PAS</i>	Esta tesis
MPO474	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-TM2,5</i>	Esta tesis
MPO475	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA- ΔSDATG</i>	Esta tesis
MPO476	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-ΔSDATG-ATG1</i>	Esta tesis
MPO477	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-ΔSDATG-ATG2</i>	Esta tesis
MPO478	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-ΔcbrA-ΔPcbrA</i>	Esta tesis
MPO483	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-cbrA P. aeruginosa</i>	Esta tesis
MPO484	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-ΔSDATG-ATG3</i>	Esta tesis
MPO485	<i>mt-2 hsdR1</i> (<i>r⁻ m⁺</i>) <i>Rif^r Gm^r ΔcbrA-ΔSDATG-ATG4</i>	Esta tesis

KT2442-C1	mt-2 <i>hsdR1</i> (r ⁻ m ⁺) Rif ^r <i>crc::Tc</i>	(Ruiz-Manzano <i>et al.</i> , 2005)
-----------	--	-------------------------------------

Pseudomonas aeruginosa

PAO1	Silvestre	American Type Culture Collection
MPO464	PAO1-pME6182	M. Valentini y K. Lapouge (sin publicar)
MPO479	$\Delta cbrA$ -pME6182	M. Valentini y K. Lapouge (sin publicar)
MPO480	$\Delta cbrA$	M. Valentini y K. Lapouge (sin publicar)
MPO481	$\Delta cbrA$ -cbrA <i>P. aeruginosa</i>	M. Valentini y K. Lapouge (sin publicar)
MPO482	$\Delta cbrA$ -cbrA <i>P. putida</i>	M. Valentini y K. Lapouge (sin publicar)

3.1.2. Plásmidos utilizados en esta tesis.

Tabla 3. Tabla de plásmidos.

Plásmido	Características relevantes	Referencia
pIZ227	Derivado de pLysE que contiene el represor <i>lacI^q</i> de pMM40 y el gen de la lisozima de T7. Cm ^r	(Govantes & Santero, 1996)
pIZ1016	Vector de expresión de amplio espectro conteniendo <i>lacI^q</i> y Ptac. Gm ^R ,	(Martinez-Perez <i>et al.</i> , 2004)
pET-14b	Vector de expresión transcrito por la RNA polimerasa de T7 conteniendo una His-tag N-terminal. Ap ^r	Novagen
pEX18Tc	Vector para reemplazamiento génico; conjugativo; Tc ^r oriT <i>sacB⁺</i>	(Hoang <i>et al.</i> , 1998)
pME6182	Mini-Tn7 gene delivery, ColE1 replicon; Gm ^r Ap ^r	(Humair <i>et al.</i> , 2009)
pME9824	Fusión cromosómica <i>PcrcZ::gfp</i> . Tc ^r	L. Abdou y D. Haas (sin publicar).
pMPO200	Vector de amplio espectro para fusiones traduccionales a <i>lacZ</i> basado en pBBR1MCS-4, Ap ^r	(Garcia-Gonzalez <i>et al.</i> , 2005)
pMPO234	Vector de amplio espectro para fusiones transcripcionales <i>trp-lacZ</i> , basado en pBBR1MCS-4. Mob ⁺ Ap ^r	(Porrua <i>et al.</i> , 2009)
pMPO385	Secuencia codificante completa de <i>cbrB</i> obtenida por digestión NdeI/BamHI romo del vector pMPO1229 clonada	Esta tesis

	junto con la SD del bacteriófago T7 EcoRI/NdeI en el vector pIZ1016 digerido EcoRI/SmaI. Gm ^R ,	
pMPO389	Secuencia aguas arriba de <i>crcY</i> en las posiciones -273 a +6 en pUC18Sfi Sma/BamHI. Ap ^r	Esta tesis
pMPO390	Secuencia aguas arriba de <i>crcZ</i> en las posiciones -212 y +30 en pUC18Sfi XbaI/ SmaI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO391	Secuencia aguas arriba de <i>crcZ</i> en las posiciones -66 y -309 en pUC18Sfi XbaI/ SmaI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO392	Secuencia aguas arriba de <i>crcY</i> en las posiciones -221 y +36 en pUC18Sfi XbaI/ SmaI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO393	Secuencia aguas arriba de <i>crcY</i> en las posiciones -34 y -303 en pUC18Sfi XbaI/ SmaI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO395	Secuencia aguas arriba de <i>crcZ</i> en las posiciones -212 y +30 en pTE103 EcoRI/ BamHI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO396	Secuencia aguas arriba de <i>crcY</i> en las posiciones -273 y +7 en pTE103 SmaI/ BamHI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO397	Secuencia aguas arriba de <i>crcZ</i> en las posiciones -145 y +117 en pUC18Sfi XbaI/ SmaI Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO398	Secuencia aguas arriba de <i>crcY</i> en las posiciones -137 y +114 en pUC18Sfi XbaI/ SmaI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO399	Secuencia aguas arriba de <i>PP2810</i> en las posiciones -208 a -466 desde el ATG en pUC18Sfi XbaI/SmaI. Ap ^r	Esta tesis
pMPO420	Fusión transcripcional <i>P_{PP2810}::lacZ</i> en pMPO234 clonada EcoRI/BamHI conteniendo la secuencia entre las posiciones -472 a -10 desde el ATG; Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO421	Fusión transcripcional <i>P_{PP3327}::lacZ</i> en pMPO234 clonada EcoRI/BamHI conteniendo la secuencia entre las posiciones -111 a +24 desde el ATG; Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO422	Fusión transcripcional <i>P_{PP2810}::lacZ</i> en pMPO234 clonada EcoRI/BamHI conteniendo la secuencia entre las posiciones -408 a -10 desde el ATG. Con esta construcción se delecionó el subsitio F' (TGTTAC) más distal del promotor. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO423	Fusión transcripcional <i>P_{PP3328.1}::lacZ</i> en pMPO234 clonada como en SmaI conteniendo la secuencia entre las posiciones -111 a +24 desde el ATG de <i>PP3327</i> ; Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO425	Derivado de pMPO422 (<i>P_{PP2810F}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio F1 (TaTTAa) que pasa a ser gcggcg. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis

pMPO426	Derivado de pMPO422 (<i>P_{PP2810F}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R1 (GTAACA) que pasa a ser agcctc. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO428	Derivado de pMPO422 (<i>P_{PP2810F}::lacZ</i>) con una mutación el subsitio R2 (aTAAtg) que pasa a ser gcggcg. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO430	Derivado de pME6182 con un fragmento de DNA que contiene <i>cbrA</i> de <i>P. aeruginosa</i> PAO1 con su propio promotor Ap ^r Gm ^r	M. Valentini y K. Lapouge (sin publicar)
pMPO435	CbrB His ₆ -tag XbaI/ BamHI romo del plásmido pMPO1229 clonado en el vector de expresión pVLT31 en XbaI/HindIII romo. Tc ^R	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO436	Derivado de pMPO1316 (<i>P_{crcZ}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio F1 (TGTTAC) que pasa a ser gactct. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO437	Derivado de pMPO1316 (<i>P_{crcZ}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R1 (GTAACA) que pasa a ser tgctac. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO438	Derivado de pMPO1316 (<i>P_{crcZ}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R2 (GTAACg) que pasa a ser taccgt. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO439	Derivado de pMPO389 (<i>P_{crcY}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio F1 (TGTTAC) que pasa a ser gactct. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO440	Derivado de pMPO389 (<i>P_{crcY}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R1 (acAgCA) que pasa a ser tgcgac. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO441	Derivado de pMPO389 (<i>P_{crcY}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R' (GTAACA) que pasa a ser taccgt. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO442	Derivado de pMPO389 (<i>P_{crcY}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO443	Derivado de pMPO440 (<i>P_{crcYR1}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R' (GTAACA) que pasa a ser taccgt. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO444	Derivado de pMPO440 (<i>P_{crcYR1}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO445	Derivado de pMPO441 (<i>P_{crcYR'}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO446	Derivado de pMPO443 (<i>P_{crcYR1R'}::lacZ</i>) con una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. Ap ^r Cb ^r	Esta tesis
pMPO447	Secuencia completa de <i>cbrA</i> fusionada a una cola 2xHA en su extremo carboxilo en el plásmido pME6182 digerido EcoRI. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO450	(<i>cbrATM2,5</i>). Secuencia promotora de <i>cbrA</i> fusionada a una versión truncada de la proteína desde la diana SacII que contiene la región 3' de <i>cbrA</i> incluidos los últimos 2,5 dominios transmembrana. Los dos fragmentos digeridos se	Esta tesis

	clonaron en el vector pME6182 digerido HindIII/KpnI. Gm ^r Ap ^r	
pMPO451	(cbrA Δ SDATG). Derivado del plásmido pMPO450 al que se le ha deletado la Shine Dalgarno y ATG silvestres de cbrA (Δ 18 nt). Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO452	(cbrA- Δ SDATG-ATG1). Derivado del plásmido pMPO451 con una mutación puntual en el ATG1 que pasa a ser AgG. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO453	(cbrA- Δ SDATG-ATG2). Derivado del plásmido pMPO451 con una mutación puntual en el ATG2 que pasa a ser AgG. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO462	(cbrA- Δ PcbrA). Secuencia completa de <i>cbrA</i> desde el nucleótido +9 desde el ATG habiendo deletado el promotor de <i>cbrA</i> , la Shine Dalgarno y ATG silvestres en pME6182 digerido HindIII/KpnI. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO463	(cbrA- Δ SDATG-ATG3). Derivado del plásmido pMPO451 con una mutación puntual en el ATG3 que pasa a ser AgG. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO464	(cbrA- Δ SDATG-ATG4). Derivado del plásmido pMPO451 con una mutación puntual en el ATG4 que pasa a ser AgG. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO1203	Región promotora de <i>cbrB</i> desde -493 a +17 del ATG clonada en un plásmido derivado de pJBA11	(C. Amador, sin publicar)
pMPO1229	Vector de expresión derivado de pET14b basado en pT7-7 para superproducir CbrB clonado NdeI/BamHI. Ap ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO1310	Derivado de pEX18Tc con las regiones flanqueantes del gen <i>cbrA</i> y la resistencia a kanamicina con las FRT entre ellas para hacer el mutante de delección de <i>cbrA</i> dejando la region promotora de <i>cbrB</i> en <i>P. putida</i> Tc ^r y Km ^r .	Esta tesis
pMPO1314	Fusión transcripcional <i>crcY::lacZ</i> en pMPO234 clonada EcoRI/BamHI conteniendo la secuencia entre las posiciones -195 y -2; Ap ^r Cb ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO1316	Fusión transcripcional <i>crcZ::lacZ</i> en pMPO234 clonada EcoRI/BamHI conteniendo la secuencia entre las posiciones -298 y -1; Ap ^r Cb ^r	(Garcia-Maurino et al., 2013)
pMPO1317	Derivado de pME6182 (HindIII/SmaI), con un fragmento de DNA que contiene <i>cbrA</i> con su propio promotor clonado HindIII/SspI con las coordenadas -421 a +3022 desde el ATG; Ap ^r Gm ^r	Esta tesis
pMPO1319	Fusión transcripcional <i>cbrB::lacZ</i> en pMPO234 clonada EcoRI/BamHI conteniendo la secuencia entre las posiciones	(Garcia-Maurino et al., 2013)

	-490 a +20 desde el ATG; Ap ^r Cb ^r	
pMPO1322	Fusión transcripcional <i>PP3539::lacZ</i> en pMPO234 clonada (Garcia-Maurino et al., 2013) EcoRI/BamHI conteniendo un fragmento de DNA de 331 pb con las coordenadas -311 y +19 desde el ATG, Ap ^r Cb ^r	
pMPO1324	(cbrAPAS) Secuencia completa de <i>cbrA</i> y su promotor con una delección en fase del dominio PAS (comprendido entre las dianas SacI de <i>cbrA</i>) en el vector pME6182 digerido con HindIII/SmaI. Ap ^r Gm ^r	Esta tesis
pMPO1325	(cbrAsoluble) Secuencia promotora de <i>cbrA</i> fusionada a una versión truncada de la proteína desde la diana EcoRI que contiene la región 3' de <i>cbrA</i> sin incluir dominios TM. Los dos fragmentos digeridos se clonaron en el vector pME6182 digerido HindIII/KpnI. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pMPO1327	Fusión traduccional <i>cbrB::lacZ</i> en pMPO200 clonada (Garcia-Maurino et al., 2013) EcoRI/SmaI conteniendo la secuencia entre las posiciones -493 a +17 desde el ATG; Ap ^r Cb ^r	
pMPO1331	Secuencia de <i>cbrA</i> TM2,5 contenida en el plásmido pMPO450 a la cual se le ha fusionado en SmaI/KpnI una cola con 2XHA en el vector pME6182 HindIII/ KpnI. Gm ^r Ap ^r	Esta tesis
pPROBE-TT'	Vector de expresión basado en GFP estable; Tc ^r	(Miller <i>et al.</i> , 2000)
pRK2013	Plásmido auxiliar en conjugaciones. Replicón ColE1. Tra ⁺ , Km ^r	(Figurski & Helinski, 1979)
pTE103	Vector para transcripción <i>in vitro</i> derivado de pUC8. Ap ^r	(Elliott & Geiduschek, 1984)
pUC18Sfi	Vector derivado de pUC18 con <i>Sfi</i> I flanqueando el MCS. Ap ^r	(Herrero <i>et al.</i> , 1990)
pVLT31	Vector de expresión conteniendo lacI ^q -Ptac Tc ^R	(Cases <i>et al.</i> , 1996)

1. Coordenadas relativas al inicio de transcripción del gen (en otro caso, se indica).

3.1.3. Oligonucleótidos utilizados en esta tesis.

Tabla 4. Tabla de oligonucleótidos.

Oligonucleótido	Secuencia 5'-3'	Diana
813-F1	AAAAA <u>CATATG</u> CCGCACATTCTGATCGTCG	<i>cbrB</i>
813-R1	AAAAA <u>GGATCCTT</u> ATTCGCTGGTAGCGTTGCTC	<i>cbrB</i>
ATG1fwd	CTGGTGTGGAGGGTGACCATG	<i>cbrA</i>
ATG1rev	CATGGTCACCCTCCACACCAG	<i>cbrA</i>
ATG2fwd	ATGGTGACCAGGCTGCTGCCG	<i>cbrA</i>
ATG2rev	CGGCAGCAGCCTGGTCACCAT	<i>cbrA</i>
ATG3fwd	CTGCTGGACAGGATCTATGTG	<i>cbrA</i>

ATG3rev	CACATAGATCCTGTCCAGCAG	<i>cbrA</i>
ATG4fwd	AGCTGGCACAGGGCCGCCATC	<i>cbrA</i>
ATG4rev	GATGGCGGCCCTGTGCCAGCT	<i>cbrA</i>
CbrA2Hafwd(Sma)	AAGGACCCGGGCGGAAGGA	<i>cbrA</i>
CbrA2HARev(Kpn)	ACAGGTACCTCACGCATAGTCAGGAACATCGTATGGGTACGC/ TAGTCAGGAACATCGTATGGGTAAATTCTCTCGACGGTCTCGA	<i>cbrA</i>
cbrA1Q	CAGGACATGGTCGAGACTTTCC	<i>cbrA</i>
cbrA2Q	GTGGATGTCTTCGGTCACGTAGT	<i>cbrA</i>
cbrA2103fwd	AAAGAGCTCCTGGCGCTGGACGGCCA	<i>cbrA</i>
CbrA3EcoRev	ACCGAATTCCATCTCGTTGGCTCTGCA	<i>cbrA</i>
CbrA3SacRev	ACACCGCGGCATCTCGTTGGCTCTGCA	<i>cbrA</i>
CbrAcomplF	CCCAAGCTTAGAGGCTGATTTGCGCT	<i>cbrA</i>
CbrAcomplR	CCCAATATTAGCGGATGATGGTTTCG	<i>cbrA</i>
cbrAF_Eco	CCCGAATTCGTCATCCAGCGTC	<i>cbrA</i>
cbrAR_Bam	CCCGGATCCCATCTCGTTGGCTCTGC	<i>cbrA</i>
CbrATMSacII	AAACCGCGGGGCATCTCGTTGGCTCTG	<i>cbrA</i>
crcY2Fwd	CGCGATACCCAATAAAAAACAA	<i>crcY</i>
crcY366Rev	GGCAGGAAGCACTGAGGG	<i>crcY</i>
crcY58R	TCTGCCGTGTTGTTCTTGTT	<i>crcY</i>
crcY72fwd	TTGTGTGGGTGAAGTGTTACCTCCCGCACATTTACAGCAAA AAATCGGGTAACAGGGAAACAAATCGGCAGAA	<i>PcrcY</i>
crcY72rev	TTTTCTGCCGATTTGTTTCCCTGTTACCCGATTTTTGCTGTG AAATGTGCGGGAGGTAACACTTCACCCACAC	<i>PcrcY</i>
crcY72mut1fwd	TTGTGTGGGTGAAGGACTCTCTCCCGCACATTTACAGCAAA AAATCGGGTAACAGGGAAACAAATCGGCAGAA	<i>PcrcY</i>
crcY72mut1rev	TTTTCTGCCGATTTGTTTCCCTGTTACCCGATTTTTGCTGTGA AATGTGCGGGAGAGAGTCTTCACCCACAC	<i>PcrcY</i>
crcY72mut2fwd	TTGTGTGGGTGAAGTGTTACCTCCCGCACATTTCTGCGACAA AAATCGGGTAACAGGGAAACAAATCGGCAGAA	<i>PcrcY</i>
crcY72mut2rev	TTTTCTGCCGATTTGTTTCCCTGTTACCCGATTTTTGTGCGAG AAATGTGCGGGAGGTAACACTTCACCCACAC	<i>PcrcY</i>
crcY72mut3fwd	TTGTGTGGGTGAAGTGTTACCTCCCGCACATTTACAGCAAA AAATCGGTACCGTGCGAAACAAATCGGCAGAA	<i>PcrcY</i>
crcY72mut3rev	TTTTCTGCCGATTTGTTTCCACGGTACCGATTTTTGCTGTG AAATGTGCGGGAGGTAACACTTCACCCACAC	<i>PcrcY</i>
crcY72mut4fwd	TTGTGTGGGTGAAGTGTTACCTCCCGCACATTTACAGCAAAA AATCGGGTAACAGGTCTCATAATCGGCAGAA	<i>PcrcY</i>
crcY72mut4rev	TTTTCTGCCGATTATGAGACCTGTTACCCGATTTTTGCTGTGA AATGTGCGGGAGGTAACACTTCACCCACAC	<i>PcrcY</i>
crcY76F	GAGGCGTAGCAAGCAGATT	<i>crcY</i>
crcY308R	CGTTGTTGCCTGCTCTTTTT	<i>crcY</i>
crcY439-3Q	CAACACCAGGACAAGCCGA	<i>crcY</i>
crcY490-4Q	TTTATTATTGGGACCGGCCTATT	<i>crcY</i>
crcYBamHI	TTTGGATCCTTGTTGTACCAGAGATA	<i>PcrcY</i>
crcYSmaI	AAACCCGGGCCTGCTGATAGCCGCCG	<i>PcrcY</i>
crcYSmalcad+	TTTCCCGGGTGTTTTATTGGGTATC	<i>PcrcY</i>
crcYSmalcad-	TTTCCCGGGGCTTGGCATTGAAACCG	<i>PcrcY</i>
crcYSmaIIHF	AACCCCGGGAAAGCGTGTGCGACTCCA	<i>PcrcY</i>
crcYXbalcad-	AAATCTAGAAAACCCTTTAAATTA	<i>PcrcY</i>

crcYXballHF	CCCTCTAGAACATTTACAGCAAAAA	<i>PcrcY</i>
crcYXbalcad+	AAATCTAGAACGGGTCGCGGGTAGCA	<i>PcrcY</i>
crcZ49-1Q	AACGGCTCACGCACAATAAAA	<i>crcZ</i>
crcZ49-PAO	AACGACTCCAGCACAACAAAA	<i>crcZ</i>
crcZ72fwd	TTCCCGTAAAAATCTGTTACCCAAGCTTTCCGCCGT ACAGTCCCCGAGGCGTACGGTAACGAAATTGCGACAT	<i>PcrcZ</i>
crcZ72rev	TTATGTCGCAATTTTCGTTACCGTACGCCTCGGGGACT GTTACGGCGGAAAGCTTGGGTAACAGATTTTACGGG	<i>PcrcZ</i>
crcZ72mut1fwd	TTCCCGTAAAAATCGACTCTCCAAGCTTTCCGCCGTAA CAGTCCCCGAGGCGTACGGTAACGAAATTGCGACAT	<i>PcrcZ</i>
crcZ72mut1rev	TTATGTCGCAATTTTCGTTACCGTACGCCTCGGGGACTG TTACGGCGGAAAGCTTGGAGAGTCGATTTTACGGG	<i>PcrcZ</i>
crcZ72mut2fwd	TTCCCGTAAAAATCTGTTACCCAAGCTTTCCGCCGTGCT ACGTCCCCGAGGCGTACGGTAACGAAATTGCGACAT	<i>PcrcZ</i>
crcZ72mut2rev	TTATGTCGCAATTTTCGTTACCGTACGCCTCGGGGACGT AGCAGGCGGAAAGCTTGGGTAACAGATTTTACGG	<i>PcrcZ</i>
crcZ72mut3fwd	TTCCCGTAAAAATCTGTTACCCAAGCTTTCCGCCGTAA AGTCCCCGAGGCGTACGTACCGTAAATTGCGACAT	<i>PcrcZ</i>
crcZ72mut3rev	TTATGTCGCAATTTACGGTACGTACGCCTCGGGGACTG TTACGGCGGAAAGCTTGGGTAACAGATTTTACGGG	<i>PcrcZ</i>
crcZ99-2Q	AATCAGTTAGCTGCGCCTCC	<i>crcZ</i>
crcZSmaI(2)cad-	AAACCCGGGAAGAGCAACGCTACCAG	<i>PcrcZ</i>
crcZSmaIHF	AAACCCGGGCACGCATCCTCTCCAAA	<i>PcrcZ</i>
crcZSmaIcad+	AAACCCGGGTGAGTTGCAGTGCTTGT	<i>PcrcZ</i>
crcZXbalcad+	AAATCTAGACTCACAGGCGCTGAACG	<i>PcrcZ</i>
crcZXbalcad-	AAATCTAGAGGTTGAACGGGTTCTGC	<i>PcrcZ</i>
crcZXballHF	AAATCTAGAACCCAAGCTTTCCGCCG	<i>PcrcZ</i>
DelPASRF2BamH	CCCGGATCCCAAGCAGCGCCTGGC	<i>cbrA</i>
DelPASRRHind	CCCAAGCTTCGGCCCAATGGTCCG	<i>cbrA</i>
DelTMR Hind	CCCAAGCTTGGCCAGCGAGCAG	<i>cbrA</i>
dPcbrA fwd	ATGAAGCTTAGCTTTAGCCTGACCCAGAT	<i>cbrA</i>
footcrcZ(3)cad+	CTAGACTCACAGGCGCTGAACG	<i>PcrcZ</i>
footcrcZ(2)cad-	CTAGAGGTTGAACGGGTTCTGC	<i>PcrcZ</i>
footcrcZIHF	CTAGAACCCAAGCTTTCCGCCG	<i>PcrcZ</i>
footcrcYIHF	CTAGAACATTTACAGCAAAAA	<i>PcrcY</i>
footcrcYcad+	CTAGAACGGGTCGCGGGTAGCA	<i>PcrcY</i>
footcrcYcad-	CTAGAAAACCCTTTAAATTA	<i>PcrcY</i>
FusrcrZFco	CCCGAATTCTACCAGCGAATAACCCA	<i>PcrcZ</i>
Fusion3539EcoF	CCCGAATTCCGAGCTTGCAACTGAAC	<i>P_{PP3539}</i>
Fusion3539BamR	CCCGGATCCTGTAGGTCTGAGTGCTCAT	<i>P_{PP3539}</i>
FusioncrcYF	CCGAATTCCAGCGCACAAATAGG	<i>PcrcY</i>
FusioncrcYRbisBam	CACGGATCCAGAGATATAGCAGGGT	<i>PcrcY</i>
FustranslcbRBFwd	AAAGAATTCTGCCTGGCTGAAGTGGCA	<i>PcbrB</i>
FustranslcbRBRev	CAGAATGTGCGGCATTGATTC	<i>PcbrB</i>
mvaB418F	GGGTATGTGTGCTGTGTGCT	<i>mvaB</i>
mvaB747R	CAACGTCTTCACTGGCGATA	<i>mvaB</i>
mvaB888F	CAGCGCACAAATAGGTCACAC	<i>mvAB</i>

PcbrA-SD Rev	AAACCGCGGATGAAGGTGACGACGAT	<i>PcbrA</i>
PP2810F	GTTGAATTCGTTGCGGGTTGGTTAACG	<i>P_{PP2810}</i>
PP2810fwdmut	TGCGAATTCCTCCATGGCGGGCGAAA	<i>P_{PP2810}</i>
pp2810mutlfwd	GGTGGCGCACGCGGGCGAAGGCATCTT	<i>P_{PP2810}</i>
pp2810mutlrev	AAGATGCCTTCGCCGCGTGCGCCACC	<i>P_{PP2810}</i>
pp2810mutllfwd	GCATCTTTTGAGCCTCCATGTTTCCT	<i>P_{PP2810}</i>
pp2810mutllrev	AGGAAACATGGAGGCTCAAAAGATGC	<i>P_{PP2810}</i>
pp2810mutlllfwd	CTTACTTCCCGGCGGCGTGCGAGGCGC	<i>P_{PP2810}</i>
pp2810mutlllrev	GCGCCTGCACGCCGCCGGAAGTAAG	<i>P_{PP2810}</i>
PP2810R	GGAGGATCCGACACTTTCCGACCGT	<i>P_{PP2810}</i>
PP2810SmaI	TTTCCCGGGCGCCTGCACATTATTGG	<i>P_{PP2810}</i>
PP2810XbaI	TTTCTAGATTGGTTAACGGGCTGTT	<i>P_{PP2810}</i>
PP3327F	CGAGAATTCGAGTGTCCAAAACATTTCC	<i>P_{PP3327}</i>
PP3327R	CAAGGATCCTAGTCACCAGACTAGTCTT	<i>P_{PP3327}</i>
Ptaq-crcZ_rev	AACCGAATTCGGATGCCTGCCAGAAGGGTAGAAA	<i>crcZ</i>
rrn-f27	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	rRNA 16s
rrn-r519	GTATTACCGCGGCTGCTG	rRNA 16s
Tn7-GlmS	AATCTGGCCAAGTCGGTGAC	<i>glmS</i>
Tn7R109	CAGCATAACTGGACTGATTTTCAG	Extremo R Tn7
ZbisBam	CACGGATCCAAACATATAGCAGGTG	<i>PcrcZ</i>
Ymut1F	GTGGGTGAAGGACTCTCTCCCGCACA	<i>PcrcY</i>
Ymut1R	TGTGCGGGAGAGAGTCCTTCACCCAC	<i>PcrcY</i>
Ymut2F	CGCACATTTCTGCGACAAAATCGGG	<i>PcrcY</i>
Ymut2R	CCCGATTTTTGTGCGAGAAATGTGCG	<i>PcrcY</i>
Ymut3F	AAAAAATCGGTACCGTGGGAAACAAA	<i>PcrcY</i>
Ymut3R	TTTGTTTCCACGGTACCGATTTTTT	<i>PcrcY</i>
Zmut1F	CGTAAAAATCGACTCTCCAAGCTTTC	<i>PcrcZ</i>
Zmut1R	GAAAGCTTGAGAGTCGATTTTTTACG	<i>PcrcZ</i>
Zmut2F	GCTTTCCGCCTGCTACGTCCCCGAGG	<i>PcrcZ</i>
Zmut2R	CCTCGGGGACGTAGCAGGCGGAAAGC	<i>PcrcZ</i>
Zmut3F	GAGGCGTACGTACCGTAAATTGCGAC	<i>PcrcZ</i>
Zmut3R	GTGCAATTTACGGTACGTACGCCTC	<i>PcrcZ</i>

3.1.4. Medios y condiciones de cultivo.

Las células se cultivaron en el medio mínimo M9 (Mandelbaum *et al.*, 1993) preparado a partir de las siguientes mezclas concentradas: tampón fosfato salino (para una solución 10 veces concentrada, 70 g/L de Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 28 g/L de KH₂PO₄ y 5 g/L de NaCl), una solución de microelementos (para una solución 500 veces concentrada,

50 g/L de $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 5 g/L de $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 2,5 g/L de $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 3,2 g/L de ZnCl_2 , 0,33 g/L $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 0,18 g/L de $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$, 0,15 g/L de $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, 3,25 g/L de H_3BO_3 , 5 g/L de EDTA y 73 mL de HCl al 37%; filtrados y conservados a temperatura ambiente) y vitaminas (para una solución 100 veces concentrada, 10 mg/L de tiamina-HCl, 4 mg/L de ácido fólico, 20 mg/L de nicotinamida y 20 mg/L de piridoxina-HCl; esterilizado por filtración y conservado a 4 °C). Como fuente rica de carbono se utilizó succinato sódico 20 mM (preparado a 1M, autoclavado y conservado a temperatura ambiente) y como fuente rica de nitrógeno, cloruro de amonio 1 g/L (preparado a 100 g/L, autoclavado y conservado a temperatura ambiente). Como fuentes limitantes de carbono se usaron citrato, arginina y oxalacetato 20 mM (preparados a 1M, filtrados y conservados a temperatura ambiente). Además, se utilizó el medio mínimo que incluía los 20 L-aminoácidos más la ornitina a una concentración de 0,6 mM cada uno (preparados a 1M, filtrados y conservados a temperatura ambiente salvo la histidina, que se conservó a -20°C). Como medio rico se usó el medio Luria-Bertani (LB) cuya composición es 10 g/L de triptona, 5 g/L de extracto de levadura y 5 g/L de cloruro sódico (Sambrook, 2000). Cuando se requirió usar un medio sólido se le añadió 15 g/L de agar bacteriológico (Panreac) al correspondiente medio de cultivo.

La activación de *crcZ* en *P. putida* en un medio mínimo con diferentes fuentes de carbono, se realizó en un medio mínimo salino BSM con la siguiente composición: K_2HPO_4 30 mM, KH_2PO_4 20 mM, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 15 mM, MgCl_2 1mM, FeSO_4 2 μM , microelementos 1X y una única fuente de carbono a una concentración final de 40 mM. Todas las fuentes de carbono fueron preparadas a una concentración 1M, se les ajustó el pH a 7, se filtraron y se conservaron a temperatura ambiente o a 4 °C, según las especificaciones del fabricante. Estos experimentos se realizaron en colaboración con el laboratorio de Karine Lapouge en Laussane, razón por la que la composición del medio mínimo variaba ligeramente.

El crecimiento de los cultivos se realizó en tubos o matraces con agitación a 180 rpm a una temperatura de 30 °C y 37 °C, para *P. putida* y *E. coli* respectivamente. Cuando fue necesario, y para asegurar la selección y mantenimiento de plásmidos y marcadores cromosómicos, se añadieron los siguientes antibióticos: ampicilina (Ap) 100 mg/L, carbenicilina (Cb) 500 mg/L, kanamicina 25 mg/L, tetraciclina (Tc) 5 mg/L (para *E. coli*), 10 mg/L (*P. putida*), rifampicina (Rf) 20 mg/L, cloramfenicol (Cm) 15 mg/L, gentamicina

10 mg/L. Para detectar actividad β -galactosidasa en medio sólido se empleó X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido) a una concentración final de 25 mg/L. Todos los reactivos se adquirieron de la casa comercial Sigma-Aldrich.

3.1.5. Conservación de estirpes bacterianas

Para la conservación de las distintas estirpes a largo plazo, se congelaron en medio LB líquido con glicerol al 15 % (v/v) y se mantuvieron a -80 °C.

3.1.6. Ensayo de movilidad en agar blando

El ensayo de movilidad por *swimming* se realizó según (Rashid & Kornberg, 2000, Robleto *et al.*, 2003). Se usaron placas de medio mínimo con succinato y amonio utilizando para ello agar de alta pureza al 0,25 % (Difco agar noble (BD Diagnostics)). Se inoculó una colonia de cada estirpe con un asa de siembra estirada atravesando el agar, desde una placa de LB agar 1,5% crecida el día anterior y las placas se incubaron a 25 °C durante 20 horas. Se cuantificó la movilidad midiendo el diámetro de la circunferencia de crecimiento y se expresó como porcentaje de movilidad relativa a la estirpe silvestre, con su correspondiente desviación estándar. Se utilizó un total de 5 réplicas biológicas por estirpe.

3.2. Manipulación de ácidos nucleicos.

3.2.1. Preparación de DNA plasmídico.

Las preparaciones de DNA plasmídico de *E. coli* DH5 α se realizaron siguiendo tres procedimientos distintos, en función de las aplicaciones posteriores. Para obtener DNA de bastante pureza, para su secuenciación o para digerirlo con el fin de realizar una clonación, se usó el kit Nucleospin Plasmid Mini (Macherey-Nagel) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para una preparación de plásmido bastante concentrada y con una pureza excepcional (particularmente libre de ribonucleasas) con el fin de usarlo como molde en las reacciones de transcripción *in vitro*, se utilizó el kit para midipreps Nucleobond PC 100 (Macherey-Nagel), siguiendo el protocolo de purificación de plásmidos de baja copia.

Para el resto de aplicaciones se usó el protocolo simplificado de lisis alcalina (Stephen *et al.*, 1990). El sedimento de células procedente de 3 mL de un cultivo saturado

en LB se resuspendió en 100 µL de solución GTE (glucosa 50 mM, EDTA 10 mM, Tris HCl 25 mM (pH 8)) y se incubó 5 min en hielo. A continuación se añadieron 200 µL de solución II (NaOH 0,2 N, SDS 1%) recién preparada, mezclando por inversión e incubando 5 min en hielo. Luego se añadieron 150 µL de solución III (NaAc 3 M pH 4,8), y se mezcló por inversión, incubándose al menos otros 5 min en hielo. Los restos celulares se eliminaron por sedimentación centrifugando durante 10 min a 13K y el DNA presente en el sobrenadante se precipitó añadiendo 1 volumen de etanol 96% a -20 °C, y centrifugando inmediatamente durante 10 min a 13K. El precipitado se lavó con 1 mL de etanol 70% frío, y se centrifugó 2 min a 13K. Dicho precipitado se secó al vacío y se resuspendió en TER (Tris HCl 10 mM (pH 8), EDTA 1mM (pH 8) con 20 mg/L de ribonucleasa). Las preparaciones de plásmidos se almacenaron a -20 °C.

3.2.2. Preparación de DNA cromosómico.

Las extracciones de DNA cromosómico de *P. putida* se realizaron con el kit *Wizard Genomic DNA Purification* (Promega), partiendo de 1 a 5 mL de cultivo saturado en medio LB, siguiendo las instrucciones del fabricante.

3.2.3. Amplificación de DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Con el fin de amplificar fragmentos de DNA para su posterior clonación, se realizaron reacciones de PCR utilizando el DNA correspondiente como molde. Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen final de 25 µL en tubos de 0,2 mL, en presencia de los oligonucleótidos adecuados a una concentración de 1 mM, dNTPs a 100 µM y 1 unidad de DNA polimerasa termorresistente de alta fidelidad (*pfu*, iNtron Biotechnology), en el tampón que suministra la casa comercial, que lleva MgCl₂ a una concentración final de 1,5 mM.. Como molde se usó, según el caso, 50 ng de DNA cromosómico de *P. putida* o *E. coli* o 10 ng de DNA plasmídico.

El programa de PCR del termociclador varió en función del tamaño y naturaleza del fragmento a amplificar, pero en líneas generales consistió en:

- a) Desnaturalización inicial: 5 min para molde cromosómico a 94 °C
- b) 30 ciclos:
 - 30 s a 94 °C (etapa de desnaturalización)

- 30 s entre 50-65 °C (temperatura variable en función de la temperatura de *melting* (T_m) de los oligonucleótidos (etapa de anillamiento)
- 60 s por kilobase de DNA a amplificar a 72 °C (etapa de extensión)

c) Extensión final: entre 5 y 7 min a 72 °C

3.2.4. PCR solapante

La técnica de PCR solapante se empleó para generar mutaciones que no tenían en las proximidades alguna diana de restricción que se pudiera utilizar para sustituir un fragmento de DNA silvestre por uno mutante mediante digestión. La PCR solapante se realizó básicamente siguiendo el método descrito por (Camacho & Casadesus, 2005). Consta de 2 fases, que se esquematizan en la figura 10. En una primera fase se realizan dos PCR independientes, cada una con un oligonucleótido externo a la región a amplificar, y uno interno que contiene la mutación a insertar (Figura 10, PCR 1). Cada oligonucleótido interno contiene las mutaciones centradas en su secuencia flanqueadas por unos 10 nucleótidos de secuencia silvestre, siendo los dos oligonucleótidos mutagénicos complementarios entre sí. Los fragmentos amplificados se purificaron según su tamaño en un gel de agarosa.

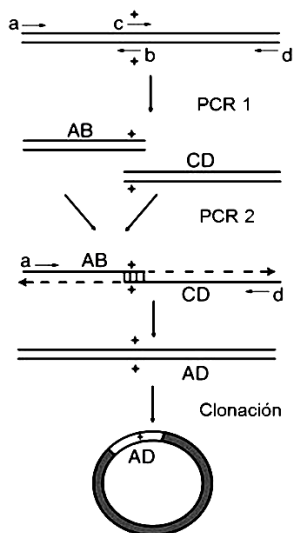


Figura 10. Esquema de una PCR solapante. Las flechas con el símbolo + representan los oligonucleótidos que contienen las mutaciones (b y c), mientras a y d representan los oligonucleótidos externos. Esquema adaptado de (Heckman & Pease, 2007).

En una segunda fase, los dos fragmentos amplificados se diluyeron 100 veces y se mezclaron, utilizándose como molde en cantidades aproximadamente equimoleculares para una segunda PCR en la que los cebadores iniciales fueron los dos oligonucleótidos más externos (Figura 10, PCR 2). En este caso, la amplificación se realizó en dos pasos consistentes en 10 ciclos iniciales con una temperatura de hibridación más alta para favorecer la extensión desde la zona solapante (donde se encuentra la mutación), y así enriquecer en molde mutante, y otros 25 ciclos a una temperatura de hibridación más baja para favorecer la extensión desde los cebadores externos y obtener cantidades suficientes de producto final mutado. Finalmente este producto de PCR solapante se purificó de un gel de agarosa y se clonó en el vector correspondiente. Se comprobó que este DNA había incorporado la mutación por secuenciación.

3.2.5. Electroforesis de DNA.

Para separar el DNA en función del peso molecular y visualizar fragmentos lineales se empleó la técnica de electroforesis en gel. Si el fragmento de interés era superior a 100 pb se utilizaron geles de agarosa de baja electroendósmosis, cuya concentración osciló entre 0,7% y 2% dependiendo de los tamaños a separar, en tampón TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, 2 mM EDTA, pH 7,7). Estos geles se sometieron a una diferencia de potencial fija de entre 90 y 120 v. Por el contrario, si el fragmento de interés era inferior a 100 pb se usaron geles verticales no desnaturizantes de poliacrilamida (acrilamida:bisacrilamida 29:1), cuya concentración varió entre el 5% y el 8% para una mejor resolución en función del tamaño del fragmento, en tampón TBE 0,5x (Tris-borato 45 mM, EDTA 1 mM, pH 8,3). En este caso los geles se sometieron a una intensidad de corriente fija de 30 mA. En ambos casos, se utilizó el marcador de peso molecular comercial 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen). Antes de cargarlas en el gel, las muestras se mezclaron con 1/6 del volumen final de tampón de carga (Tris-HCl 10 mM, (pH 8); Na₂EDTA 1 mM (pH 8); glicerol 30% (v/v), azul de bromofenol 0.25% (p/v) y xylene cyanol 0.25% (p/v)). Después de la electroforesis, el gel se tiñó en una solución de bromuro de etidio 1 mg/L y las bandas de DNA se visualizaron en un transiluminador de radiación ultravioleta (Vilber Lourmat) y se fotografiaron y cuantificaron con una cámara acoplada a una impresora de impresión térmica.

3.2.6. Aislamiento y purificación de fragmentos de DNA.

El DNA resuelto mediante un gel de agarosa, se tiñó con bromuro de etidio y los fragmentos se identificaron mediante visualización con un transiluminador de radiación ultravioleta de baja energía y se aislaron recortando los mismos del gel con un bisturí. Para purificar el DNA contenido en la agarosa, se utilizó el kit GFX (GE Healthcare) siguiendo las instrucciones del fabricante.

3.2.7. Clonación de fragmentos de DNA en plásmidos.

La clonación de fragmentos de DNA se realizó esencialmente como está descrito en (Sambrook, 2000). Los fragmentos de DNA, procedentes de un plásmido o de una reacción de PCR se cortaron con las enzimas de restricción adecuadas en cada caso (procedentes de las compañías Roche, New England Biolabs o Thermo Scientific), en el correspondiente tampón de reacción suministrado por el fabricante. Cuando fue necesario, se rellenaron los extremos 5' protuberantes con el fragmento Klenow de la DNA polimerasa, y se eliminaron los extremos 3' protuberantes con la DNA polimerasa del fago T4. Posteriormente, y tras purificar los fragmentos deseados del gel de agarosa como se ha descrito anteriormente y cuantificarlos, se mezclaron para realizar una reacción de ligación en tampón ligasa (0,5 M Tris-HCl (pH 7,6), 0,1 M MgCl₂, 50 mM DTT, 500 mg/L de BSA) en presencia de ATP 1 mM si los fragmentos a ligar tenían extremos cohesivos o de ATP 0,1 mM si los fragmentos a ligar tenían alguno de los extremos romo. Cada ligación se realizó en un volumen final de 10 µL o 15 µL en presencia de 1 unidad de DNA ligasa de T4 (Roche), y se incubó al menos 12 h a 16 °C. Finalmente se transformó la estirpe *E. coli* DH5α competente (según el método citado en el apartado 3.2.10) con la mezcla de ligación, y se sembró, junto al correspondiente control de religación, en placas de medio rico que contenían el correspondiente antibiótico que portaba el plásmido en el que se realizaba la clonación. Si el fragmento clonado provenía de una amplificación por PCR, los clones obtenidos se comprobaron por restricción y además mediante secuenciación. Una vez seleccionado el clon correcto se procedió a la congelación de la estirpe de *E. coli* que lo contenía por duplicado en la colección de estirpes del laboratorio.

3.2.8. Transferencia de plásmidos por conjugación.

La transferencia de plásmidos desde *E. coli* a *P. putida* se llevó a cabo por conjugación triparental, utilizando para ello la estirpe de *E. coli* DH5 α con el plásmido auxiliar pRK2013 (Figurski & Helinski, 1979) a partir de cultivos saturados crecidos en medio LB de las estirpes adecuadas en cada caso (la estirpe de *E. coli* donadora, la de *P. putida* receptora y la estirpe auxiliar). Se tomó 1 mL de cada estirpe, se lavó con LB fresco para eliminar los antibióticos de los medio de cultivo, y se hizo una mezcla con 0,3 mL de cada estirpe. Esta mezcla se centrifugó, se eliminó la mayor parte del sobrenadante y el sedimento de células se resuspendió en el volumen residual de medio. Las células resuspendidas se depositaron en forma de gota (parche de conjugación) en una placa de LB sólido, y se incubaron durante 7-8 h a 30 °C. Posteriormente se segregó parte del parche en una caja de LB con los antibióticos adecuados para la selección de la transferencia del plásmido y X-gal si el plásmido contenía el gen *lacZ*.

3.2.9. Obtención de células competentes.

Para la transformación de *E. coli* DH5 α con mezclas de ligación las células se hicieron competentes según (Inoue *et al.*, 1990), con el que se consigue una alta frecuencia de transformación (hasta 10⁹ transformantes por μ g de DNA plasmídico) y que permite la conservación de las células competentes a -80 °C por un prolongado espacio de tiempo sin una disminución importante de la competencia. Para la transformación con plásmidos de otras estirpes de *E. coli* (como la NCM631), las células se hicieron competentes mediante el tratamiento con TSS (Chung *et al.*, 1989), que implica la transformación inmediata de las células competentes pues no se pueden conservar. En este caso, para cada transformación, se recogieron las células procedentes de 1 mL de cultivo de la estirpe receptora cuando alcanzó una A₆₀₀ de 0,3-0,6, y se resuspendieron en 75 μ L de LB frío. Tras una incubación a 4 °C durante 5 min para enfriar las células, se añadieron 75 μ L de TSS 2x frío (triptona 0,8 % (p/v), extracto de levadura 0,5 % (p/v), NaCl 85,5 mM, PEG-8000 25 mM, DMSO 10% (v/v), MgSO₄ 100 mM, pH 6,5), se mezcló suavemente y se incubó de nuevo 5 min a 4 °C, estando las células entonces listas para ser transformadas.

Para la preparación de células electrocompetentes de *P. putida* se usó el método descrito en Choi y col. (Choi *et al.*, 2006) basado en el lavado de las células con sacarosa 300 mM y con el que se consiguen del orden de 10^9 - 10^{10} bacterias viables.

3.2.10. Transferencia de plásmidos por transformación mediante choque térmico.

Se mezclaron entre 50 y 150 μ L de células competentes con 500 ng de preparación de plásmido o 10-15 μ L de mezcla de ligación y se incubaron 30 min a 4 °C para la correcta adsorción a la superficie celular. Después se sometieron a un choque térmico de durante 40 s a 42 °C, se enfriaron rápidamente en hielo y se les añadió 1 mL de LB. Se incubaron durante 60- 90 min a 37 °C para que el antibiótico se exprese y se sembraron en placas de LB con el antibiótico adecuado. Las placas se incubaron toda la noche a 37 °C.

3.2.11. Transferencia de plásmidos por electroporación

Para la transformación de plásmidos por electroporación se usaron unos 500 ng de plásmido y 100 μ L de células electrocompetentes de *P. putida* descritas en el apartado 3.2.9 dando un pulso en cubetas de electroporación con 0,2 mm de distancia entre los electrodos, y se dio un pulso según el protocolo Ec2 de un electroporador Micropulser™ (Biorad). Inmediatamente se añadió 1 mL de LB para la reconstitución rápida de las membranas celulares, se homogenizó la mezcla y se transfirió a un tubo eppendorf que se incubó 1-2 horas a 30 °C en agitación.

Para la integración de fragmentos en el cromosoma de *P. putida* mediante el sistema de transposición Tn7 (Lambertsen *et al.*, 2004) se procedió de forma similar pero se usó 1 μ g del plásmido donador del fragmento (derivado del pME6182, que contiene las resistencias a Gm y Ap), 1 μ g del plásmido helper pUX-BF13 (contiene la transposasa y la resistencia a ampicilina) y 100 μ L de células electrocompetentes. La integración estable del fragmento contenido entre ambos extremos del transposón (Tn7R y Tn7L) se produce en un sitio único del cromosoma aguas abajo del gen *glmS* (PP5499) en *P. putida*. La mezcla se transfirió a cubetas de electroporación de 0,2 mm de paso, se aplicó un pulso eléctrico y se añadió 1 mL de LB. A continuación se incubó 3 horas a 30 °C en agitación, se hicieron diluciones de la mezcla y se sembraron en cajas de LB con los antibióticos adecuados para la selección de la integración del fragmento. Para comprobar los candidatos integrados correctamente en el cromosoma de *P. putida*, se analizaron

mediante amplificación por PCR de colonias con un oligonucleótido que hibridaba dentro de la secuencia del transposón (Tn7R109) y otro dentro del gen *glmS* (Tn7Glms), amplificando un fragmento de 150 pb si la integración era correcta.

3.2.12. Secuenciación de DNA.

Las reacciones de secuenciación para confirmar la presencia o ausencia de mutaciones en el DNA clonado fueron llevadas a cabo por la empresa Secugen (Madrid). Para la comparación de las secuencias obtenidas con las bases de datos se utilizó el paquete de herramientas BioEdit (Ibis Biosciences) y BLAST (Altschul et al., 1997) disponible en la página web del NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

3.2.13. Preparación de RNA total.

Las extracciones de RNA se realizaron como se ha descrito (Garcia-Gonzalez et al., 2005) con algunas modificaciones. Se utilizaron cultivos de 25 mL en los medios correspondientes. Cuando los cultivos alcanzaron la densidad óptica adecuada, se recogieron las células en alícuotas de 2 mL en frío y se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido. Las alícuotas se guardaron a -80 °C hasta el momento de ser procesadas. Posteriormente, cada alícuota se resuspendió en 0,5 mL de TriPure Isolation Reagent (Roche), que contiene fenol e isocianato de guanidinio, y se incubaron 10 min a 60 °C para lisar las células. Tras juntar las alícuotas dos a dos, se centrifugaron 10 min a 16100 g y a 4 °C para eliminar restos celulares y el sobrenadante se transfirió a tubos de Phase Lock Gel (Eppendorf) precompactados. Se les añadió 200 µL de cloroformo, se agitaron por inversión y se incubaron a 4 °C durante 15 min. Después se centrifugaron 15 min a 16100 g y a temperatura ambiente y se añadieron 400 µL de fenol: cloroformo: isoamílico (25:24:1), se agitaron por inversión y se centrifugaron 5 min a 16100 g y a 4 °C. Se transfirió la fase acuosa a otro tubo y se precipitó con 1 volumen de isopropanol durante 10 min a 4 °C. Tras un lavado con etanol 70% preenfriado se secaron los precipitados y se resuspendieron en un volumen de 100 µL de H₂O DEPC.

Para los ensayos de PCR cuantitativa, se realizó un tratamiento con DNasa (kit Turbo DNA Free de Ambion) siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación, las muestras se limpiaron una vez más, eliminando gran parte del RNA ribosómico 5S con RNeasy mini kit (Qiagen), usando el protocolo Clean Up y eluyendo cada muestra en 50 µL de H₂O del kit. Las muestras de RNA se cuantificaron en el NanoDrop y se

visualizaron en gel de agarosa para verificar la cuantificación y comprobar su integridad. Para comprobar la ausencia de contaminación con DNA se llevó a cabo una PCR con utilizando 500 ng de RNA como molde y oligonucleótidos que amplificaban regiones de genes de alta expresión, como son el gen del RNA 16S o el de la proteína ribosómica 28S. Las muestras de RNA fueron guardadas a -20 °C en alícuotas para un uso a corto plazo o a - 80 °C para largo plazo.

3.2.14. Marcaje de sondas de DNA

3.2.14.1. Marcaje de las sondas de DNA con radioactividad

Los fragmentos de DNA se obtuvieron por amplificación mediante PCR y posterior digestión con la enzima adecuada. Los fragmentos generados contenían extremos 5' protuberantes y se rellenaron con $\alpha[^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ utilizando el fragmento Klenow. Para ello se prepararon mezclas de reacción que contenían 1 μg de sonda de DNA, tampón de reacción H (Roche) 1X, 0,25 mM de cada desoxinucleótido dGTP, dTTP y dATP, 10 μCi de $\alpha[^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ y 2 U de Klenow (Roche). La mezcla se incubó durante 30 minutos a 37 °C y el DNA marcado se purificó mediante el kit MSB Spin PCRapace (Invitex).

3.2.14.2. Marcaje de las sondas de DNA con digoxigenina

Las sondas digeridas y purificadas se marcaron con digoxigenina empleando 2 μL de Dig Labelling mix 10x (Roche), 2 μL de Hexanucleotide mix 10x (Roche) y 1 U de enzima Klenow (Roche) en un volumen de 20 μL e incubando la mezcla 13 horas a 37 °C. Como protocolo alternativo se realizó la propia reacción de PCR en un volumen final de 25 μL con 2,5 μL de Dig Labelling mix 10x (Roche) y se purificó la banda tras migrar los productos en un gel de agarosa.

3.2.15. Hibridación de sondas de RNA (*Northern Blot*)

Al tratarse de manipulación de RNA, todos los pasos se realizaron en un ambiente libre de RNAasas, con guantes y todas las soluciones fueron preparadas con H₂O DEPC (1mL DEPC/ 1L H₂O). Se cargó el RNA total (10-20 ug) en un gel de agarosa desnaturizante al 1,2 % con formaldehído 6,6 % (v/v) y tampón MOPS ((N-morfolino) ácido propanosulfónico-acetato sódico-EDTA pH 7.0)). Como marcador de peso molecular se utilizaron 5 μL de dos tipos de marcadores de RNA, uno para bandas de bajo peso molecular (Low Range ssRNA ladder (Biolabs)) y otro para las que tenían un tamaño

superior a 1500 pb (RNA molecular weight marker II, (Roche)). Como control de carga se hizo una estimación del RNA ribosómico, tiñiendo el gel con bromuro de etidio y visualizando las bandas con el transiluminador de UV.

La transferencia del RNA a la membrana se realizó según (Brown *et al.*, 2004) con modificaciones. Se llevó a cabo una desnaturalización del gel en 15 mM NaCl, 50 mM NaOH durante 30 minutos y a continuación se neutralizó en 100 mM TrisHCl, 15 mM NaCl durante 30 minutos. Finalmente se equilibró el gel durante 20 minutos en SSC 10x (1,5 M NaCl, 150 mM Citrato sódico pH 7,0), y se procedió a la transferencia del RNA a una membrana Hybond-N+(GE Healthcare) mediante capilaridad, usando como tampón SSC 10x y como mecha papel Whatman (3 mm espesor) y dejando toda la noche a temperatura ambiente como se muestra en la figura 11. La membrana se secó por completo y se fijó mediante *crosslink* por irradiación ultravioleta durante 30 segundos por cada cara. Se comprobó la eficiencia en el proceso de transferencia mediante la tinción del gel con bromuro de etidio y visualización al UV



Figura 11. Esquema de la transferencia de RNA por capilaridad. El gel se colocó sobre una superficie de vidrio con una mecha de papel de filtro Whatman y sobre éste se colocó la membrana de nylon y sucesivas capas de papel de filtro y papel toalla. En la parte superior se colocó un soporte de vidrio y sobre él algún objeto pesado.

La hibridación de la membrana con el RNA transferido con la sonda marcada con digoxigenina se realizó en un horno de hibridación Hybridiser HB-3D (Techne). La solución de prehibridación (SSC 5x, N-laurilsarcosina 0,1 %, SDS 0,2 %, solución de bloqueo 1 %, formamida 50 % y agua destilada) se precalentó 10 minutos a 65 °C y a

continuación se añadieron 125 µl de DNA de esperma de salmón hervido (10 mg/mL) por cada 25 mL de solución de prehibridación y se dejó atemperando otros 10 minutos a 65 °C. A continuación se añadió la solución de prehibridación precalentada en los tubos del horno, de forma que se cubriese bien la membrana y se incubó durante 1 hora a 42 °C. Para las sondas de nueva síntesis, se desnaturalizó la sonda a 100 °C 10 minutos con carácter previo a la hibridación y se añadió la sonda marcada y purificada a la solución de prehibridación. Cuando la sonda era reutilizada, se reemplazó la solución de prehibridación por la de hibridación. Se incubaron las membranas con las sondas toda la noche a 42 °C.

Para la detección del DNA, las membranas se lavaron previamente dos veces durante 5 minutos con 50 mL de solución SSC 2x con SDS 0,1% a temperatura ambiente manualmente y 2 lavados de 15 minutos a 68°C con solución SSC 0,1x con SDS 0,1% precalentada, usando el horno de hibridación. A continuación se retiró la solución de lavado y se equilibraron las membranas 1 minuto en Tampón 1 (ácido maleico 100 mM pH 7,5, NaCl 150 mM y agua), y se añadieron 40 mL de solución de bloqueo 1 % (4 mL de blocking reagent 10 % en 36 mL de tampón 1) y se incubó al menos 30 minutos a temperatura ambiente en el agitador de sobremesa Unimax 1010 (Heidolph). Se le añadió 4 µl de anti-Dig-fosfatasa (Roche), se homogeneizó la mezcla y se incubó durante 30 minutos en agitación. Se lavaron las membranas dos veces en 40 mL de Tween 20 0,3 % (en tampón 1) durante 15 minutos. Se retiró la solución de lavado y se equilibró 2 minutos en 20 mL de tampón 3 (Tris HCl 100 mM pH 9,5) y se añadió NaCl y MgCl₂ 50 a 100 mM y 50 mM respectivamente. Para revelar el Northern se añadió CSPD (Roche) con dilución 1:300, se homogenizó y se incubó 5 minutos en agitación. Finalmente se pusieron las membranas en bolsas de hibridación eliminando cualquier burbuja. Se incubó durante 15 minutos a 37 °C para activar la fosfatasa alcalina. Se expusieron las membranas 1 y 24 horas con películas de radiografías en cassettes de exposición y usando la máquina de revelado y/o haciendo uso del sistema de imagen ChemiDoc™ MP Imaging System (Bio-Rad). El análisis cuantitativo sencillo se realizó con el programa ImageJ (NIH version 1.61).

Para los ensayos Dot-blot se procedió de igual forma salvo que se pipeteó 5 µL de DNA o RNA directamente en la membrana, se dejó secar y se realizó el *crosslink* e hibridación como se ha descrito arriba.

3.2.15.1. Deshibridación de membranas de *Northern Blot*

Para deshibridar las membranas que provenían de un *Northern Blot*, se hicieron 3 lavados a 80 °C en una solución de deshibridación (SDS 1%, SSC 0,1X, 40 mM Tris pH 7,5). Se retiró el exceso de solución con un papel de filtro y se rehibridó en el momento o se secó la membrana y se conservó hasta su próximo uso entre acetatos a 4°C.

3.2.15.2. Tratamiento con TEX

Cuando se requirió, y previo a los ensayos *Northern Blot*, se trató el RNA con TEX (*Terminator 5'-Phosphate-dependent Exonuclease*, Epicentre®, Madison, WI, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La enzima TEX digiere específicamente RNAs con un monofosfato en el extremo 5' que han sido procesados desde un transcrito anterior, pero no digiere los transcritos primarios que conservan los tres fosfatos en su extremo 5' (Figura 12). Por tanto, un transcrito que provenga del procesamiento de un precursor anterior será degradado por la enzima TEX y no será reconocido en la hibridación con la sonda usada en el *Northern Blot*. Se trataron 10 µg de RNA total con 2 µL de TEX, 2 µL de tampón de reacción A de TEX y 0,5 µL de inhibidores de RNAasa (RNase OUT 40U/ µL, Invitrogen) en un volumen total de 20 µL. A los tubos sin TEX se les añadió 2 µL de agua DEPC. Tras 2 horas a 30 °C, se paró la reacción añadiendo 1 µL de EDTA 10 mM pH8 y poniendo los tubos en hielo.

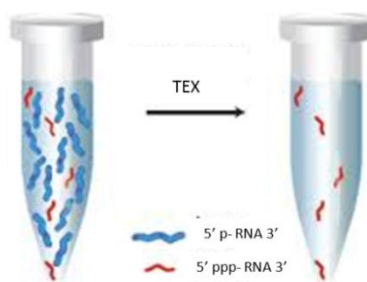


Figura 12. Tratamiento con TEX. Diagrama que representa la degradación por la enzima TEX (*Terminator 5'-Phosphate-dependent exonuclease*) de los transcritos procesados que portan un único fosfato en su extremo 5' (5' p-RNA 3') sin afectar a los transcritos primarios que portan 3 fosfatos (5' ppp-RNA 3'). Figura modificada de Epicentre.

3.2.16. Construcción del mutante *cbrA* (MPO413)

Para la construcción del mutante de delección de *cbrA* MPO413, se amplificaron mediante PCR los fragmentos flanqueantes al gen *cbrA* usando los oligonucleótidos CbrAF_Eco (contiene la diana EcoRI) y CbrAR_Bam (contiene BamHI) para amplificar la región izquierda y DelPASRF2BamH (contiene BamHI) y DelPASRRHind (contiene HindIII) para la región flanqueante derecha, usando siempre DNA genómico como molde. Estos fragmentos junto con el de la resistencia a la kanamicina con las secuencias FRT cortado BamHI del plásmido pMPO284, se clonaron de forma dirigida en el plásmido pEX18Tc digerido con EcoRI y HindIII, resultando en el plásmido pMPO1310. Este plásmido, no replicativo en *P. putida*, se transfirió por electroporación a la estirpe KT2442 según Choi y col. (Choi et al., 2006) y se seleccionaron colonias resistentes a kanamicina 25 µg/mL.

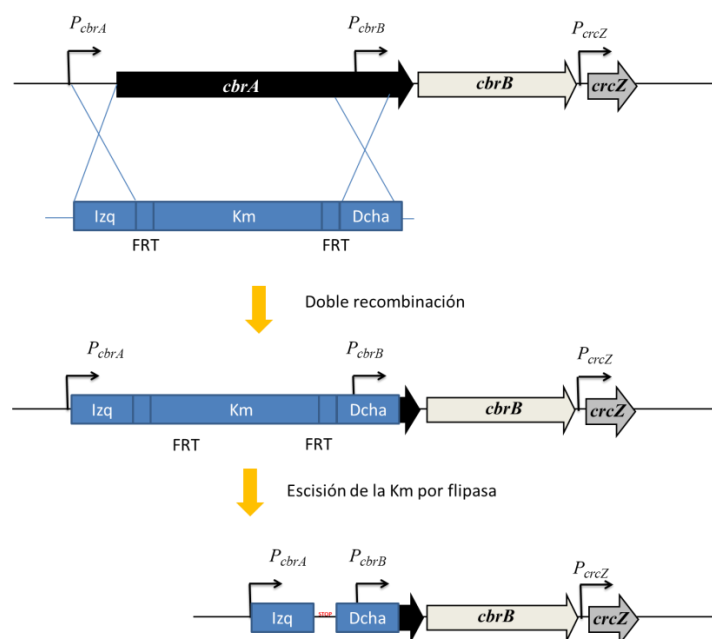


Figura 13. Construcción del mutante de delección *cbrA*. Diagrama que representa la doble recombinación que permitió deleccionar el gen *cbrA* manteniendo intacto el promotor de *cbrB* mediante la electroporación del plásmido pMPO1310 en *P. putida* (arriba). Se representa además la escisión del gen de resistencia a kanamicina flanqueada por las secuencias FRT con ayuda de la enzima flipasa (abajo). La cicatriz que dejan las FRTs incorpora un codón de STOP en la pauta de lectura integrada. La estirpe resultante ha perdido cualquier resistencia plasmídica y tiene delecionada más de 2/3 de *cbrA*.

Se envejecieron los cultivos en medio líquido LB con kanamicina durante 3 días a 30 °C para favorecer la doble recombinación. La kanamicina seleccionaba tanto eventos de recombinación simple, integración del plásmido por recombinación por las regiones homólogas izquierda o derecha, como de doble recombinación por resolución de la recombinación al sustituir el gen por el cassette de kanamicina con las FRT. Posteriormente se sembró en medio con kanamicina y sacarosa el cultivo envejecido y se hicieron réplicas de las colonias a tetraciclina para comprobar la escisión del plásmido ya que un mutante que haya hecho la doble recombinación debe mantener la resistencia a kanamicina pero debe perder la sensibilidad a sacarosa y la resistencia a tetraciclina (Figura 13).

El gen de la resistencia a kanamicina, que se encontraba flanqueado por las secuencias FRT en el cromosoma de *P. putida*, se escindió mediante el uso de la enzima flipasa en el plásmido pFLP2. Para ello, se electroporó el plásmido pFLP2 que contiene la flipasa, y la resistencia a ampicilina (carbenicilina en *P. putida*), y las células se sembraron en cajas con carbenicilina (Cb) para mantener el plásmido y se pusieron cultivos desde colonias aisladas en un medio LB con Cb para que la flipasa actuara escindiendo la kanamicina. Tras esto se sembraron las células en cajas sin antibiótico y se pusieron cultivos desde colonias aisladas en LB para que perdieran el plásmido. Se hicieron réplicas en Km, en Cb y en LB. Los candidatos que crecieron en un medio LB pero no en presencia de Km (por haber escindido el gen) ni en Cb (por haber perdido el plásmido pFLP2) fueron seleccionados como clones de interés.

A continuación, se extrajo DNA genómico a los posibles candidatos y se comprobó mediante PCR su correcta disposición genómica utilizando varias combinaciones de oligonucleótidos internos y externos al gen *cbrA* y tras su posterior secuenciación se confirmó que se había producido la delección. Además, a los que cumplían el patrón correcto de amplificación, se les extrajo RNA y por PCR cuantitativa con los oligonucleótidos *cbrA1Q* y *cbrA2Q* se comprobó que no expresaban *cbrA*. A la estirpe resultante se le denominó MPO413.

3.3. Análisis de la expresión génica.

3.3.1. Ensayos de actividad β -galactosidasa.

Los ensayos de actividad β -galactosidasa para aquellos plásmidos que contenían fusiones transcripcionales de secuencias promotoras al gen *lacZ* (plásmido pMPO234), se realizaron según (Miller, 1992). Se partió de un preinóculo saturado en 5-10 mL de LB o medio mínimo con succinato como fuente de carbono. Los preinóculos se lavaron 3 veces con tampón fosfato salino y se diluyeron en los medios adecuados para el ensayo, en los que se variaba únicamente la fuente de carbono (especificada en cada experimento). Se diluyeron las células a una absorbancia (A_{600}) de 0,05 en el medio correspondiente y se cultivaron a 30°C en agitación hasta alcanzar la fase exponencial media de crecimiento (A_{600} = 0,25-0,5). Una vez alcanzada la A adecuada, se tomaron 50-100 μ L de cultivo y se mezclaron en hielo con 700 μ L de tampón Z con β -mercaptoetanol recién añadido (Na_2HPO_4 60 mM, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 40 mM, KCl 10 mM, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 mM, β -mercaptoetanol 0,27% (v/v)) 30 μ L de cloroformo y 20 μ L de SDS 0.1% (p/v). La mezcla se homogenizó en el vórtex y se mantuvo 5 minutos a 30 °C antes de añadirle 200 μ L de ONPG 13 mM (o-nitrofenil galactopiranosido, preparado en tampón Z). Se volvió a homogenizar en el vórtex y se incubó a 30 °C hasta que la mezcla adquirió una tonalidad amarilla, momento en el que se paró la reacción añadiendo 500 μ L de carbonato sódico (Na_2CO_3) 1 M y poniéndola en hielo. Se anotó el tiempo en el que la reacción viró de color, es decir, el tiempo transcurrido entre la adición de ONPG y la de Na_2CO_3 , se centrifugó la mezcla 15 min a 9300 g y se cuantificó el color amarillo del sobrenadante en un espectrofotómetro a 420 nm. Para calcular la actividad β -galactosidasa de cada muestra en unidades Miller aplicamos la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad (Unidades Miller)} = \frac{A_{420}}{V \cdot t \cdot A_{600}} \cdot 1000$$

Actividad: Unidades Miller.

A_{420} : Absorbancia de la reacción a 420 nm de longitud de onda.

V: Volumen de cultivo utilizado en la reacción (mL).

A_{600} : Absorbancia del cultivo a 600 nm de longitud de onda.

t: Tiempo de reacción (minutos).

3.3.2. Cuantificación de la expresión de *crcZ* fusionada a GFP.

Con el objeto de determinar las condiciones de máxima activación por CbrB en las estirpes *P. putida* y *P. aeruginosa* PAO1, se realizó una cuantificación de la expresión de *crcZ* en distintas fuentes de carbono. Para ello se empleó una fusión del gen *crcZ* de *P. aeruginosa* fusionado al gen de la proteína verde fluorescente (*gfp*) y se cuantificó la fluorescencia emitida en placas multipocillo. Para ello, se cultivó la estirpe silvestre de *P. putida* (realizado por esta doctoranda) y de *P. aeruginosa* (en colaboración con el grupo de K. Lapouge en Lausanne) que contenían los plásmidos pME9824 (*crcZ::gfp*) o pPROBE-TT' (plásmido vacío). Se inocularon diferentes placas de 24 pocillos con cultivos de 1 mL de medio mínimo BSM suplementado con diferentes fuentes de carbono a una concentración final de 40 mM a una A_{600} de 0,05 y se incubaron a 30 °C (*P. putida*) y a 37 °C (*P. aeruginosa*) durante 24 horas a 400 rpm. Cada hora, se midió la absorbancia a 600 nM y la fluorescencia *gfp* (excitación a 435 nM y emisión a 535 nM) se midió con un fluorímetro para placas multipocillo (Tecan).

3.3.3. Retrotranscripción de RNA.

La retrotranscripción de RNA total (3-10 µg) se llevó a cabo como se describe en (Yuste *et al.*, 2006) con el kit High Capacity cDNA Archive (Applied Biosystems) que usa como cebadores una mezcla de hexámeros aleatorios. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 100 µL y se aplicó el programa recomendado por el fabricante (10 minutos a 25 °C y 2h a 37 °C). El DNA complementario (cDNA) obtenido se limpió con el kit Quiaquick (Quiagen) y se eluyó en 50 µL de H₂O. Para cuantificar la cantidad obtenida se midió la absorbancia a 260 nM en un espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer, que calculó la concentración aplicando un coeficiente de extinción de 33 ng cm mL⁻¹.

3.3.4. PCR semicuantitativa.

Para detectar la presencia de determinados transcritos, se realizaron reacciones de amplificación con un número corto de ciclos (normalmente 25) partiendo de cDNA procedente de muestras de RNA obtenidas en las condiciones en estudio. Para las reacciones se usó el kit Illustra™ PureTaq™ Ready-to-Go™ PCR beads (GE Healthcare) usando como molde 1-25 ng de cDNA y las condiciones de amplificación adecuadas a la pareja de oligonucleótidos. Para confirmar la integridad del cDNA se amplificó un

fragmento de 455 pb del gen ribosómico 16S con los oligonucleótidos *rrn-f27* y *rrn-r519* (Hugenholtz *et al.*, 1998). Se realizaron controles positivos y negativos con DNA genómico de KT2442 y sin molde respectivamente. Los productos de amplificación se resolvieron y visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa 2 % en tampón TAE (p/v).

3.3.5. PCR cuantitativa (RT-qPCR).

Esta técnica se utilizó para cuantificar la expresión de genes en distintas condiciones de cultivo y diversas estirpes. Para ello, se combina la amplificación de fragmentos de DNA mediante PCR con la medición de la cantidad de DNA a través de la detección de la fluorescencia del agente intercalante SYBR Green, que emite fluorescencia al unirse específicamente al DNA de doble cadena. Se diseñaron oligonucleótidos para cada gen a analizar (listados en la tabla 4 de oligonucleótidos) con el programa Primer Express 2.0, siguiendo los criterios del fabricante del aparato de PCR cuantitativa (Applied Biosystems).

En todos los casos, se extrajo RNA de tres réplicas biológicas de cada condición y se retrotranscribió (ver apartados 3.2.13. y 3.3.3.). Una vez obtenido, el cDNA se limpió con el kit Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen) y se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA).

Se mezclaron en frío 1-10 ng de cDNA molde, 300 nM de cada oligonucleótido y 12,5 µL de Power SYBR Green PCR Master Mix 2x (Applied Biosystems) en un volumen final de 25 µL para cada reacción para cuatro réplicas de reacción de PCR por condición. Los amplicones de PCR variaron entre 50-100 pb. Como curva patrón de calibración se realizaron 5 diluciones seriadas de DNA cromosómico de 25-0,0025 ng de *P. putida* KT2442, que sirvieron así de referencia para cuantificar la cantidad relativa de cDNA de un gen presente en cada condición. Todas las reacciones se realizaron por cuadruplicado en una placa de 96 pocillos de material óptico (polipropileno). Las reacciones de PCR cuantitativa se realizaron en un termociclador AbiPrism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems) según las instrucciones del fabricante, siguiendo el siguiente programa:

- a) 2 min a 50 °C.
- b) 10 min a 95 °C (desnaturalización inicial).

c) 40 ciclos:

- 15 s a 95 °C (etapa de desnaturalización).
- 1 min a 60 °C (etapa de apareamiento y extensión).

d) Subida paulatina de la temperatura desde 60 °C hasta 95 °C. Este último paso es un protocolo de disociación del DNA para detectar posibles productos inespecíficos, como serían los dímeros de oligonucleótidos, a través de las temperaturas de desnaturalización (T_m) de los productos presentes en la muestra, calculadas a partir de la curva de disociación obtenida. Si hubiese más de un producto tras la reacción de amplificación aparecería más de una T_m , en cuyo caso se descartarían los oligonucleótidos usados por falta de especificidad.

Para cada gen se hicieron un mínimo de 3 réplicas biológicas (cultivos diferentes) y de cada réplica biológica un mínimo de 3 réplicas técnicas (3 repeticiones). Los datos obtenidos se normalizaron frente a una de las condiciones de ensayo, que denominamos condición control. Posteriormente se calcularon las medias y desviaciones estándar de las normalizaciones de todas las repeticiones de cada experimento.

3.3.6. Transcripción *in vitro*.

Los ensayos de transcripción *in vitro* (TIV) se realizaron para analizar la capacidad de CbrB de activar la expresión de los promotores de *crcZ* y *crcY* y además para estudiar la capacidad de co-activación de IHF. Estos ensayos se llevaron a cabo esencialmente como se describe en (Porrua et al., 2009).

La transcripción *in vitro* se realizó mediante ensayos de transcripción de multi-ronda en un volumen final de 20 μ L conteniendo 35 mM Tris-acetato (pH 7.9), 70 mM acetato de potasio, 5 mM acetato de magnesio, 20 mM acetato de amonio, 5% glicerol, 1 mM DTT, 5 mg BSA, 4 mM ATP y 12,6 mM del molde de DNA conteniendo el promotor del gen a ensayar. El núcleo de la RNA polimerasa de *E. coli* (Epicentre) (100 nM), el factor σ^{54} de *P. putida* 200 nM y la proteína IHF (75 nM) se añadieron cuando se requirió, y las reacciones se incubaron durante 10 minutos a 30 °C. Se añadieron concentraciones crecientes de CbrB (en presencia o no de acetil fosfato) y las reacciones se incubaron otros 10 minutos a 30 °C. En cualquier caso, tras esos 20 min de incubación se añadió a cada reacción 2,5 μ L de una mezcla de que contenía 2,7 U de inhibidores de RNasa (RNase OUT 40 U/ μ L, Invitrogen), 0,4 mM de ATP, 0,4 mM de GTP, 0,4 mM de CTP, 0,07

mM de UTP y 0,033 μ M de α [32 P]UTP (Perkin Elmer), incubándose durante 10 min a 30 °C para iniciar la transcripción multi-ronda. Después de 10 minutos de incubación, se evitó una posible re-iniciación añadiendo heparina (0.1 mg mL⁻¹) e incubado la mezcla otros 5 minutos a 30 °C. Finalmente se añadieron 5 μ L de tampón de parada (formamida 95%, EDTA 20 mM, azul de bromofenol 0,05% y xylene cyanol 0,05%) y se pusieron en hielo. Las reacciones se hirvieron durante 2 min y se corrieron en geles de 1,5 mm de grosor de TBE/acrilamida 6% (p/v)-urea 8 M previamente precorridos, en TBE 1x (Tris-ácido bórico 90 mM, EDTA 2 mM, pH 8,3). Los geles se secaron con un secador HoeferTM Slab Gel Dryer CD 2000 (GE Healthcare) y se expusieron a una pantalla sensible a radiaciones gamma (Storage Phosphor Screen, GE Healthcare). Las bandas se visualizaron con un escáner Typhoon 9410 y se analizaron usando el software ImageQuant (GE Healthcare).

En todos los casos se realizaron al menos tres réplicas independientes de un experimento, mostrando en los resultados los valores medios y desviaciones estándar entre dichas réplicas.

3.4. Manipulación de proteínas.

3.4.1. Electroforesis desnaturante de proteínas en geles de poliacrilamida-SDS.

Para analizar la cantidad de proteína total de la célula se centrifugó 1 mL de cultivo y se resuspendió en 25 μ L de agua por cada unidad de A₆₀₀ del cultivo. A esto se le añadió 1 volumen de tampón de carga 2X (Tris-HCl 160 mM (pH 8), glicerol 20% (v/v), SDS 4%, azul de bromofenol 0,1%, β -mercaptoetanol 10% (v/v)), se hirvió entre 5-10 minutos y se centrifugó para eliminar los restos celulares, utilizando normalmente 5-10 μ L del sobrenadante para visualizar las proteínas en gel. Cuando se analizaron extractos de proteína soluble se les añadió 1 volumen de tampón de carga 2X antes de cargarlos en el gel, mientras que para visualizar la fracción precipitada (insoluble) de proteínas resultante de la preparación de los extractos se procedió de la misma forma que en el análisis de la proteína total salvo hirviendo al menos 15 minutos antes de cargar la muestra.

Las proteínas fueron analizadas mediante electroforesis en geles desnaturantes de poliacrilamida con SDS 0,1% (p/v), según el método descrito por (Laemmli, 1970). La electroforesis de proteínas se realizó en geles de poliacrilamida-SDS discontinuos, consistentes en una parte superior de empaquetamiento (Tris-HCl 125 mM (pH 6,8), SDS 0,1%, acrilamida: bisacrilamida 4% (37,5:1), persulfato amónico 0,1%,

TEMED 0,1% (v/v)) y una parte inferior de separación (Tris-HCl 375 mM (pH 8,8), SDS 0,075%, acrilamida: bisacrilamida 10-12% (37,5:1), persulfato amónico 0,033%, TEMED 0,067% (v/v)). Como marcador de peso molecular se usó el marcador B de "Ready Gel Bands" (Bio-Rad), compuesto por una mezcla de nueve proteínas de entre 6,5 y 200 kDa. La electroforesis se realizó en Tank Buffer 1X (Trizma base 25 mM, glicina 19,2 mM y SDS 0,1% (p/v) a una intensidad de corriente fija de 30 mA por gel. Se hicieron 3 lavados de 5 minutos con agua del gel y se tiñó con EZBlue Gel Staining Reagent (Sigma) siguiendo las instrucciones del fabricante. Finalmente se lavó con agua y se secó en un secador de geles Hoefer™ Slab Gel Dryer CD 2000 (GE Healthcare) durante 1 hora a 80°C.

3.4.2. Detección de proteínas en PAGE por reconocimiento antígeno-anticuerpo (*Western blotting*)

Se realizó una electroforesis convencional en gel de poliacrilamida-SDS cargando 5 µL de extracto soluble (1:1 extracto: tampón de carga con β-mercaptoetanol). Antes de proceder a la transferencia de las proteínas separadas en función de su peso molecular, se activó la membrana de PVDF Hybond-P (GE Healthcare) en metanol durante 10 segundos, se lavó con agua destilada y se equilibró junto con el gel en tampón de transferencia (5 g/L de Tris, 14,4 g/L de glicina, 1 g/L de glicerol, y 20 % (v/v) de metanol) durante al menos 15 minutos. La transferencia de las proteínas desde el gel a la membrana se realizó en frío usando el sistema de transferencia Mini Trans-Blot® Electrophoretic Transfer Cell (BioRad) fijando una diferencia de potencial de 100 V y una intensidad de corriente de 350 mA durante una hora. Una vez terminada la transferencia, la membrana se lavó 3 veces con TTBS 1x (Tris-HCl 15 mM pH 7,5, NaCl 0,2 M y 0,05 % (v/v) de Tween-20) durante 5 minutos y se incubó durante 2 horas en solución de bloqueo (Tris-HCl 15 mM pH 7,5, NaCl 0,2 M, 50 g/L de leche en polvo desnatada). A continuación se añadió el anticuerpo primario diluido en solución bloqueo y se dejó incubar toda la noche a 4 °C con agitación. A la mañana siguiente, se retiró el anticuerpo primario (a su concentración correspondiente según el ensayo) y se lavó la membrana 4 veces con tampón TTBS 1x durante 10 minutos cada vez, para retirar el anticuerpo en exceso. Luego se incubó la membrana durante 2 horas con el anticuerpo secundario, anti-conejo conjugado con peroxidasa de rábano (HRP-Ig, Sigma) diluido 5000 veces en solución de bloqueo. Finalmente, se repitieron los lavados con TTBS 1x (4 lavados de 10 minutos) y

para detectar el anticuerpo se usó el kit de revelación SuperSignal® West Dura Extended Duration Substrate (Thermo Scientific) mezclando 350 µl de cada solución y dejando actuar durante 5 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación, se secó el exceso de reactivo de la membrana y ésta se usó para impresionar una película de rayos X durante el tiempo necesario (entre 0 segundos y 2 minutos).

3.4.3. Superproducción de proteínas en *E. coli* y *P. putida*.

La superproducción de la proteína CbrB en *E. coli* se hizo con el objeto de purificar la proteína, y se realizó como está descrito en (Garcia *et al.*, 2011) con modificaciones. Para ello, se utilizó la estirpe NCM631 transformada previamente con el plásmido pIZ227, que contiene clonado el represor laqI^q y el gen de la lisozima de T7 (Govantes & Santero, 1996). Además se introdujo el plásmido pMPO1229, que contenía el gen de *cbrB* clonado bajo el promotor de T7 y además una fusión a una cola de 6 histidinas (Histag) en el extremo N-terminal. Como control negativo se usó el vector original donde se había clonado (pET14b).

El proceso de superproducción se realizó de la siguiente manera: se diluyó 100 veces un inóculo saturado en LB con ampicilina y cloramfenicol de la estirpe transformada, en 2 L de LB con los respectivos antibióticos, y se incubó a 37 °C en agitación hasta que la A₆₀₀ alcanzó un valor de 0,3. A continuación se atemperó a 30°C durante 30 minutos con agitación hasta que la A₆₀₀ alcanzó un valor de 0,5. En ese momento se añadió IPTG a los cultivos a una concentración final de 0,5 mM y se incubaron a 16 °C durante 12-16 h. Las células se recogieron por centrifugación durante 10 min a 8000 g a 4 °C y los sedimentos se congelaron a -80 °C.

La superproducción de CbrB en *P. putida* se realizó con el objeto de observar el efecto que producía un aumento en la dosis de CbrB en distintos fondos genéticos. Para ello se introdujo el plásmido pMPO385 que contenía el gen de *cbrB* clonado bajo el promotor Ptac y la Shine Dalgarno de T7. Como control negativo se usó el vector original donde se había clonado (pIZ1016) que es replicativo en *Pseudomonas*. Para la superproducción, se lavó dos veces un inóculo saturado en el medio correspondiente con Rif y Gm en tampón fosfato salino y se diluyó hasta 0,05 en el medio fresco con Gm e IPTG a una concentración final de 0,5 mM. Se incubaron en agitación a 30 °C hasta que la

A₆₀₀ alcanzó el valor requerido. Las células se recogieron por centrifugación durante 10 min a 8000 g a 4 °C y los sedimentos se congelaron a -80 °C.

3.4.4. Purificación de CbrB silvestre.

Para proceder a la purificación de CbrB-His₆ se usó una cromatografía de afinidad basada en la unión de la cola de histidinas a cationes divalentes y posterior elución con imidazol. Se usó una columna con una resina cargada con cobalto llamada Agarose Beads Bulk Resins (High Density Cobalt, ABT, S.L) y se siguieron las indicaciones del fabricante.

Todos los pasos siguientes se llevaron a cabo a 4°C. Los sedimentos de 2 L de cultivo inducido de NCM631/pIZ227+pMPO1229 se resuspendieron en 40 mL de tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM (pH 8), glicerol 5 %, Imidazol 10 mM y NaCl 100 mM) con fluoruro de fenilmetilsulfonilo 1mM) y se rompieron por sonicación en un vaso de precipitado mantenido en hielo. Las células se sometieron durante 22 minutos a varios pulsos de 2 segundos al 20% de amplitud con 2 segundos de parada entre ellos. Después se ultracentrifugaron durante 60 min a 30000 g a 4°C para separar la fracción soluble de proteínas (sobrenadante) de la insoluble (precipitado). El sobrenadante se cargó en la columna de cobalto previamente equilibrada con el tampón de lisis. La columna fue lavada sucesivas veces con el tampón de lisis y se eluyeron las proteínas unidas mediante un gradiente creciente de imidazol. Se recogieron todas las fracciones y se detectó la presencia de CbrB-His₆ mediante visualización en un gel de poliacrilamida-SDS según se detalla en el apartado 3.4.1. Las que fueron de interés se concentraron mediante el uso de centricones de 30K (Amicon Ultra) en un volumen final de 2 mL y se conservaron a -80°C. La concentración de proteína se calculó usando un método basado en el descrito por Bradford (Bradford, 1976), utilizando el reactivo Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad) y la pureza se estimó visualmente mediante SDS-PAGE.

3.4.5. Producción de anticuerpos antiCbrB

Tras la superproducción y purificación de la proteína CbrB como se ha descrito en los apartados precedentes, se obtuvo una preparación de CbrB a una concentración de 0,7 µg/µL con una pureza del 90%. Se cargó un total de 1 mg de CbrB en dos geles de acrilamida al 10% (medianos de 40 mL) y tras su migración se tiñeron con azul de Coomassie. La proteína correspondiente por tamaño a CbrB se extrajo del gel de

agrilamida con un bisturí para evitar contaminates proteícos no deseados y de esta manera se enviaron a la empresa de producción de anticuerpos Eurogentec (Bélgica). Allí se inyectó la proteína a un conejo en un protocolo estándar de producción de anticuerpos policlonales de 2 meses, 4 inyecciones y 3 sangrados. La empresa envió el sangrado final del conejo y se comprobó mediante Western Blot que los anticuerpos generados reconocían la proteína CbrB. Para su uso se añadió el sangrado directamente en el tampón de bloqueo en una dilución 1:1000.

3.4.6. Purificación de las proteínas IHF de *E. coli* y σ^N de *P. putida*.

La proteína IHF de *E. coli* fue amablemente cedida por Fernando Govantes y Ana Platero y se purificó como se describe en (Johansson *et al.*, 2008). La proteína σ^N purificada de *P. putida* utilizada en esta tesis fue amablemente cedida por el laboratorio de la Dra. Victoria Shingler (Umea, Suecia) y fue igualmente purificada siguiendo el protocolo establecido en (Johansson *et al.*, 2008).

3.4.7. Fosforilación *in vitro* de CbrB mediante acetil fosfato.

La fosforilación *in vitro* de CbrB se realizó como se ha descrito en (Hervas *et al.*, 2010). En función de la finalidad del uso de CbrB-P se realizó en el tampón de la reacción correspondiente (i.e. tampón de unión (apartado 3.5.1) para los ensayos de retardo en gel, o tampón de reacción (apartado 3.3.6) para las reacciones de transcripción *in vitro*). En ambos casos se incubó en el tampón correspondiente a una concentración 1x, BSA 7,5 nM, acetil-fosfato 40 mM y CbrB a distintas concentraciones (entre 0 y 2 μ M), en un volumen final de 5 μ L a 30°C durante 10 minutos, e inmediatamente se iniciaron las reacciones de retardo o las de transcripción *in vitro* tal y como se describe en los apartados 3.5.1 y 3.3.6 respectivamente. La concentración final de acetil-fosfato en ambos ensayos fue de 10 mM que debe ser suficiente para mantener la fosforilación en el experimento, tal y como se describe en Feng y col. (Feng *et al.*, 1992).

3.4.8. Filtración en gel de CbrB.

La cromatografía de exclusión molecular (a menudo también llamada filtración en gel o de tamiz molecular) es una de las técnicas más sencillas de las empleadas en la separación de proteínas y ácidos nucleicos. En este caso, se realizó en la columna pre-empaquetada Superdex 200 10/300 GL (GE Healthcare) que permite un rango de

separación entre 10 y 600 Kda. La columna estaba acoplada a un sistema ÄKTA que monitoriza los volúmenes y flujos incorporados en la columna así como la detección mediante espectrometría de los cambios de absorbancia que se producen cada vez que un compuesto sale de la misma.

La columna se equilibró con el tampón en el cual se purificó y congeló la proteína CbrB (Tris-HCl 50 mM (pH 8), glicerol 5 % y NaCl 100 mM) y tras esto se inyectaron 100 μ L con las proteínas estándar para establecer la curva patrón de peso molecular. Se usaron los patrones ovoalbúmina, albúmina, aldolasa y catalasa a una concentración de 10 mg/mL y azul dextrano a una concentración de 1 mg/mL. Tras esto, se lavó la columna de nuevo con el tampón y se inyectó 100 μ L de una preparación de CbrB a 1,5 μ g/ μ L (150 μ g totales). El flujo en todo caso se mantuvo a 0,5 mL/min.

Además, se realizó este mismo ensayo usando el tampón de unión de los ensayos de retardo en gel y *footprints* (Tris-acetato 35 mM (pH 7,9), acetato potásico 70 mM, acetato magnésico 2 mM, acetato amónico 20 mM, cloruro de calcio 1 mM, DTT 1 mM y glicerol 5 % (v/v)) sin DNA competidor ni BSA, para comprobar si el estado de oligomerización de CbrB se modificaba en este tampón. Para este ensayo se utilizó la columna Superose 6 10/300 (GE Healthcare) que permite un rango de separación entre 5 y 5000 Kda y las proteínas estándar ovoalbúmina, albumina, catalasa y tiroglobulina a una concentración de 3 mg/mL y azul dextrano a una concentración de 1 mg/mL. Se inyectaron se inyectaron 200 μ L de la misma preparación de CbrB que en el ensayo anterior (un total de 300 μ g totales) y se anotó su volumen de elución.

El sistema ÄKTA generó unas gráficas exportables con los picos detectados. Se generó una curva patrón de peso molecular con las proteínas estándar. Se ajustaron estos valores a una recta y se calculó el peso molecular de los picos encontrados en las purificaciones de CbrB mediante la fórmula $K_{av} = (V_R - V_0) / (V_c - V_0)$, donde V_R es el volumen de retención (elución) de la proteína, V_0 es el volumen vacío de la columna (volumen en el que sale el Azul Dextrano) y V_c es el volumen geométrico de la columna en mL (25 mL).

3.5. Análisis de interacciones DNA-proteína.

3.5.1 Ensayos de retardo en gel.

Para ver las propiedades de unión de CbrB e IHF a los distintos promotores a analizar se realizaron ensayos de retardo en gel como se describe en (Porrúa *et al.*, 2007). Las reacciones se realizaron en 20 μ L finales a temperatura ambiente en el tampón de unión (Tris-acetato 35 mM (pH 7,9), acetato potásico 70 mM, acetato magnésico 2 mM, acetato amónico 20 mM, cloruro de calcio 1 mM, DTT 1 mM y glicerol 5 % (v/v)), conteniendo 250 ng/ μ L de BSA, DNA de esperma de salmón (100 ng/ μ L) como DNA competidor, la sonda marcada (3 nM) y 1/10 del volumen final de CbrB a distintas concentraciones (entre 0 y 2 μ M). En los experimentos en los que se analizaba el efecto de la fosforilación de CbrB además se añadió a la reacción acetil fosfato 10 mM tal y como se describe en el apartado 3.4.7. Las mezclas se incubaron 20 min a temperatura ambiente y después se les añadió 4 μ L de tampón de carga 6X (azul de bromofenol 0,05% (p/v), xylene cyanol 0,05% (p/v), Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, glicerol 30% (pH 8)). Estas reacciones DNA-proteína se resolvieron mediante electroforesis en gel nativo de acrilamida: bisacrilamida (29:1) al 5% (IHF) y 10% (CbrB) (p/v), previamente precalentado, en tampón TBE 0,5x (Tris-ácido bórico 45 mM, EDTA 1 mM, pH 8,3) a 4 °C. Posteriormente los geles se procesaron y se analizaron tal y como se describe en el apartado de transcripción *in vitro* (apartado 3.3.6).

En todos los casos se realizaron al menos tres réplicas independientes de un experimento, mostrando en los resultados los valores medios y desviaciones estándar entre dichas réplicas. Cuando fue posible se calculó la constante de disociación (K_d) como la concentración de proteína a la cual el 50 % de DNA se encuentra unido a la proteína formando un complejo. Para el caso de IHF, se ajustaron los datos a una ecuación mediante el ajuste a una curva de un sitio de unión (hipérbola rectangular) usando la función de regresión no lineal del programa GraphPad Prism, estableciendo la B_{max} (máximo de unión) como el 100% de sonda unida (Porrúa *et al.*, 2010).

3.5.2. Ensayo de protección frente a digestión con DNasa I (*Footprint*).

Los ensayos de protección frente a digestión con DNasa I se utilizaron para localizar *in vitro* las secuencias de las regiones promotoras a las que se unen CbrB o la proteína IHF esencialmente como se describe en (Porrúa *et al.*, 2007). Las reacciones de

footprint se realizaron en un volumen final de 20 μ L en las mismas condiciones que los ensayos de retardo (apartado 3.5.1) salvo que tras los 20 minutos de incubación a temperatura ambiente se les añadió 1 μ L de una dilución 1/100 del stock DNasa I no recombinante (10 U/ μ L, Roche Diagnostics). Las reacciones se incubaron durante 30 segundos a temperatura ambiente y se pararon añadiendo 5 μ L de solución de parada preparada fresca (acetato sódico 1,5 M (pH 5,2), EDTA 100 mM (pH 8), DNA de esperma de salmón 1 mg/mL y glucógeno 2,5 mg/mL). Las muestras se precipitaron añadiendo 62,5 μ L de etanol 96% (v/v) y se incubaron al menos 30 min a -20 °C. Posteriormente las muestras se centrifugaron, lavaron y resuspendieron en 5 μ L de tampón de stop (formamida 95% (v/v), EDTA 20 mM, azul de bromofenol 0,05% (p/v) y xylene cyanol 0,05% (p/v)).

Como marcador de tamaño se utilizaron las correspondientes reacciones de secuenciación con oligonucleótidos específicos de cada cadena, para correrlas en paralelo junto a las reacciones de footprint. Para ello se utilizó el kit Sequenase 2.0 kit (USB) siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Como molde se utilizaron 5 μ g del plásmido con la región promotora adecuada en cada caso, mientras que de cada oligonucleótido se usaron 0,5 pmoles por reacción.

Las muestras y las reacciones de secuenciación se desnaturalizaron incubándolas durante 5 min a 80 °C. Se cargaron las reacciones de *footprint* y entre 1 y 2 μ L de cada reacción de secuenciación en un gel de secuenciación de TBE/acrilamida 6% (p/v)-urea 8 M previamente precalentado durante al menos 30 minutos en las condiciones de la carrera. El gel se corrió en TBE 1x (Tris-ácido bórico 90 mM, EDTA 2 mM (pH 8,3)) 2 horas y 30 min a 2500 V y tras la carrera, los geles se secaron en un secador Hoefer™ Slab Gel Dryer CD 2000 (GE Healthcare) y se expusieron al menos durante 12 h en una pantalla sensible a radiaciones gamma (Storage Phosphor Screen, GE Healthcare). Finalmente la pantalla se escaneó con un escáner Typhoon 9410 (GE Healthcare) para visualizar las bandas obtenidas junto con las reacciones de secuenciación.

3.6. Experimento de ChIP-Seq en *Pseudomonas putida*.

Se siguió el protocolo descrito en (Schmidt *et al.*, 2009) y las especificaciones del fabricante para las Dynabeads (Invitrogen) con algunas modificaciones adaptadas para células procariotas. Se partió de un preinóculo saturado de 25 mL de KT2442 que

contenía el plásmido pMPO385, que contenía el gen *cbrB* expresado bajo el promotor *P_{tac}*, crecido en un medio mínimo con succinato sódico como fuente de carbono, cloruro de amonio y gentamicina. A continuación se lavaron las células en tampón fosfato salino y se diluyó el cultivo hasta una densidad óptica de 0,05 en 250 mL de medio mínimo con L-aminoácidos 0,6 mM, gentamicina e IPTG 0,5 mM como inductor. Cuando el cultivo alcanzó una densidad óptica de entre 0,3 y 0,5 se realizó el *crosslink* de las proteínas totales unidas al DNA añadiendo 1/10 del volumen de una solución 11% de formaldehído (50 mM Hepes KOH, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,5 mM EGTA, 11% formaldehído), durante 15 minutos a temperatura ambiente. La reacción se paró añadiendo un 1/20 del volumen de glicina 2,5 M y se incubando 5 minutos más a temperatura ambiente. Se centrifugaron las células y se hizo un lavado con tampón fosfato salino en frío. En este punto se congeló el pellet a -80°C hasta el momento de su procesamiento (Figura 14).

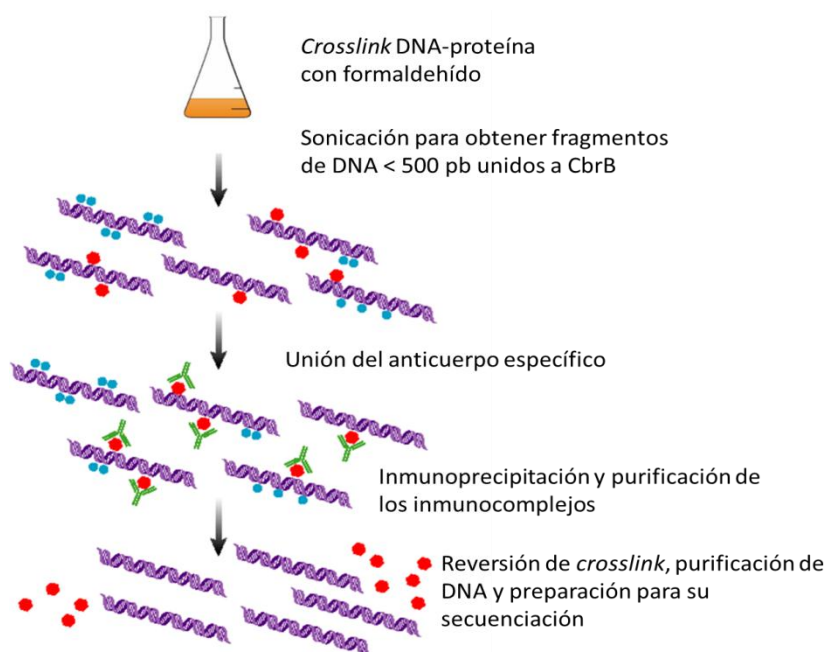


Figura 14. Esquema del experimento de Chip-seq. El DNA y las proteínas se unen de forma covalente (*crosslink*) con formaldehído, se fragmenta el DNA y se inmunoprecipitan los fragmentos de aproximadamente 500 pb con anticuerpos anti-CbrB. A continuación de desproteíniza, se purifica el DNA y se secuencia mediante secuenciación masiva *short-read*. Esquema modificado de (Mardis, 2007).

El pellet de células se resuspendió en 10 mL de tampón de lisis (50 mM HEPES/KOH pH 7,5, 140 mM NaCl, 1mM EDTA, Triton X-100 1%, 0,1% Sodium deoxycholate) con PMSF 1mM como inhibidor de proteasas. Para limitar el tamaño de DNA al que se unía la proteína CbrB, se fragmentó el DNA total por sonicación durante 120 ciclos de 15 segundos a una intensidad del 40% con una parada 30 segundos en hielo entre ciclos. El extracto se centrifugó a 4°C a 13K durante 15 minutos y se conservó el sobrenadante para la proseguir con la inmunoprecipitación y una pequeña alícuota como control negativo para pruebas posteriores.

Para la reacción de inmunoprecipitación de CbrB superproducido *in vivo* se utilizaron bolitas magnéticas comerciales que tenían conjugada la proteína A que interacciona con la región conservada Fc de los anticuerpos (Dynabeads Protein A, Invitrogen). Para preparar las bolitas magnéticas Dynabeads Protein A, se homogenizó la solución comercial en una noria giratoria vertical durante 5 minutos, y se hicieron alícuotas de 100 µL (3 mg) en 10 eppendorfs (un volumen total de 1 mL). Posteriormente, se separan las bolitas de la solución stock colocando los eppendorf en un imán y se eliminó el sobrenadante para a continuación añadir 40 µL del anticuerpo anti-CbrB (ver apartado 3.4.5) mezclado con 200 µL de tampón de lavado (PBS pH 7.4, 0,02% Tween 20) en cada tubo. Esta mezcla se incubó en rotación durante 3-4 horas a 4°C. Luego se retiró la solución con el anticuerpo y se lavaron las bolitas pipeteando suavemente en 400 µL de tampón de lavado.

Para llevar a cabo la inmunoprecipitación del antígeno diana unido a los fragmentos de DNA, se eliminó la solución de lavado de las Dynabeads con el imán y se añadieron 1000 µL del extracto y se incubó en rotación a 4°C durante toda la noche para permitir que el antígeno se uniera al complejo bolita-anticuerpo. Se lavaron las bolitas tres veces usando 400 µL de PBS pH7.4 para cada lavado. Se resuspendió el complejo bolita-anticuerpo-antígeno en 100 µL de PBS pH7.4 y se transfirió la suspensión de bolitas a un eppendorf limpio. Este paso está recomendado para evitar la co-elución de proteínas unidas a la pared del tubo. Finalmente, para llevar a cabo la elución del antígeno diana, se eliminó el sobrenadante y se añadieron 40 µL de tampón de elución (50mM TrisHCl pH8, EDTA 10 mM, SDS 1%), y se pipeteó suavemente para resuspender el complejo. Esta mezcla se incubó durante 15 minutos a 65°C para disociar el complejo. Finalmente se

colocó el tubo en el imán y se transfirió el sobrenadante con la elución a un eppendorf limpio.

Para la separación de los complejos DNA-proteína se incubó la elución a 65°C durante toda la noche. Tras esto, se trató con proteinasa K (0,5 ug/mL) durante 2 horas a 37°C para eliminar las proteínas. Se purificó el DNA con el kit Qiagen Qiaquick spin eluyendo cada tubo en 10 µL (un volumen final total de 100 µL).

Se tomó una alícuota del DNA antes y después de la inmunoprecipitación, se cuantificó con el kit para muestras poco concentradas (Quant-iT Picogreen, Invitrogen) siguiendo las especificaciones del fabricante y se analizó por PCR cuantitativa el enriquecimiento en fragmentos con el único control positivo del que se disponía hasta la fecha (el gen *crcZ*) y tras esta validación se envió el vial con el DNA congelado en hielo seco a la empresa Beijing Genomics Institute BGI, China. En BGI, se realizó el protocolo de secuenciación *Illumina sequencing*. Este proceso conlleva tres pasos fundamentales. El primero de ellos es la preparación de una genoteca mediante una nueva fragmentación del DNA, reparación de los extremos 3' protuberantes y adenilación. A continuación se realiza una ligación con unos oligonucleótidos adaptadores metilados a ambos extremos del DNA y los fragmentos de DNA son purificados y seleccionados por tamaño (entre 100-300 pb, incluyendo la secuencia del adaptador). El segundo paso es la generación de un *cluster*. Cada molécula de DNA de una sola cadena es inmovilizada en una flow cell. Mediante *solid-phase bridge amplification* con nucleótidos sin marcar se generan 1000 copias idénticas de doble cadena de cada molécula molde en una proximidad inferior a un micrón. Las hebras se desnaturalizan dejando de nuevo hebras de una sola cadena ancladas al sustrato y se produce una amplificación final que genera varios millones de *clusters* de DNA de doble cadena. El tercer paso es una secuenciación por síntesis (SBS) usando 4 nucleótidos marcados fluorescentemente para secuenciar en paralelo las decenas de millones de *clusters* en la superficie de la *flow cell*. Durante cada ciclo de secuenciación, un único deoxinucleósido trifosfato (dNTP) marcado reversiblemente se une a la cadena de ácidos nucleicos. La marca del nucleótido sirve como un terminador de la polimerización por lo que tras cada incorporación de cada dNTP, la marca fluorescente sirve para identificar la base y después, tras la acción de una enzima, permite la incorporación del siguiente nucleótido. El resultado final es una secuenciación

base a base muy precisa que permite su comparación con un genoma de referencia (<http://www.illumina.com/>) .

Los datos de la secuenciación se mapearon en el genoma de referencia (*P. putida*) y únicamente las lecturas mapeadas fueron después usadas para el análisis bioinformático estándar. El análisis bioinformático implicó un filtrado de datos que eliminaba las secuencia de los adaptadores, contaminantes y lecturas de baja calidad. A continuación, se generaron picos representativos de las lecturas repetidas y solapantes en una región concreta del genoma. El valor de *p-value* se calculó mediante la distribución de Poisson dinámica de una región específica basado en las lecturas mapeadas únicas. La región se definió como un pico cuando el *p-value* era menor de 10^{-5} . Finalmente, se generó un documento Excel (Anexo 1) con todos los picos indicando su localización (chr1, cromosoma 1), el inicio y el final del pico, su longitud, el *summit* (cima del pico, área más representada), *tags* (número de lecturas de esta región), *p-value* de esta región y las veces de enriquecimiento de la región respecto distribución de Poisson dinámica con un lambda local. Los picos se ordenaron según el valor tags/longitud y con este material de partida, se generó un documento Word con todas las secuencias de todos los picos y manualmente se localizaron todos los posibles subsitios de unión de CbrB (TGTTAC y GTAACA) así como los posibles promotores dependientes de σ^N (Anexo 2).

3.7 Extracción y análisis de metabolitos de *Pseudomonas*

Se cultivó la estirpe silvestre de *P. aeruginosa* PAO1 en 100 mL de un medio mínimo BSM con oxalacetato 40 mM o con fumarato 5 mM y oxalacetato 40 mM en matraces de 500 mL en agitación y a 37°C. Para cada condición, se realizaron dos cultivos en paralelo. Las muestras se tomaron para cada cultivo en los tiempos indicados en la figura metaboloma (en el apartado 4.4.7.3 de resultados). Se filtraron las células y se extrajeron los metabolitos como se describe en (Takeuchi *et al.*, 2012). Posteriormente, los metabolitos se enviaron a la empresa Human Metabolome Technologies (HMT, Japón) donde se llevó a cabo el análisis de los mismos por la técnica *capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry* (CE-TOFMS) (Soga *et al.*, 2003).

4. RESULTADOS

4.1. Capítulo 1: Caracterización de la regulación mediada por CbrB sobre los RNAs pequeños CrcZ y CrcY

El RNA pequeño (sRNA) *crcZ* se localiza aguas abajo de *cbrB* en el genoma de *P. aeruginosa*, y también en el resto de las *pseudomonas* que tienen ortólogo, incluida *P. putida*. CbrB activa la expresión de *crcZ* y su transcripción depende del factor σ^N de la RNA polimerasa (Sonnleitner et al., 2009). Además, se ha descrito que los niveles de expresión de *crcZ* eran más elevados cuando la bacteria crecía en un medio que contenía una fuente de carbono no preferencial, es decir, se encontraba en condiciones libres de represión catabólica, en comparación con las condiciones de represión (Sonnleitner et al., 2009, Abdou et al., 2011). Recientemente se ha descrito en *P. putida* otro gen que codifica un sRNA de gran similitud en secuencia a *crcZ*, denominado *crcY*, que cumple un papel equivalente a CrcZ (Moreno et al., 2012). *crcY* se localiza aguas abajo del gen *mvaB*, que codifica una hidroximetilglutaril-CoA liasa, y su expresión también está activada por CbrB (Garcia-Maurino et al., 2013, Moreno et al., 2012).

En *P. aeruginosa* y *P. putida* se ha descrito que la proteína CbrB se une específicamente a la secuencia promotora del RNA pequeño CrcZ (para la primera) (Abdou et al., 2011) y de CrcZ y CrcY (para la segunda) (Moreno et al., 2012, Garcia-Maurino et al., 2013), aunque no se habían identificado los residuos de interacción. En ambos casos, la secuencia de reconocimiento predicha era idéntica (TGTTAC-N_x-GTAACA), aunque el espaciamiento entre los posibles subsitios de unión de CbrB era distinto. Resultaba por tanto de gran interés identificar los residuos exactos a los que se unía CbrB en las secuencias promotoras de los sRNAs para así poder comprender de forma mas precisa el mecanismo de unión de CbrB, y por consiguiente la activación transcripcional de sus genes diana.

4.1.1. Análisis de las secuencias promotoras de los RNAs pequeños CrcZ y CrcY

La región intergénica de *crcZ* en *P. putida* consta de 284 pb entre el codón de *stop* de PP4696 (*cbrB*) y el inicio de la transcripción de *crcZ* descrito en (Moreno et al., 2012). Ensayos de *primer extension* realizados en nuestro laboratorio localizaron este inicio en una timina (Garcia-Maurino et al., 2013). El análisis de su secuencia permitió identificar dos subsitios que cumplen el consenso de sitios de unión de CbrB obtenido para *P. aeruginosa* (TGTTAC-N_x-GTAACA), que están separados en este caso por 14

nucleótidos (Abdou et al., 2011). A partir de ahora los subsitios de unión de CbrB se denominarán como F (de *forward* por su orientación, y coloreado en azul) y R (de *reverse* por su orientación, y coloreado en amarillo). Además, se localizó otra región que cumplía el consenso establecido para promotores del tipo σ^N (GG-N₁₀-GC) a una distancia adecuada del inicio de la transcripción (Figura 15).

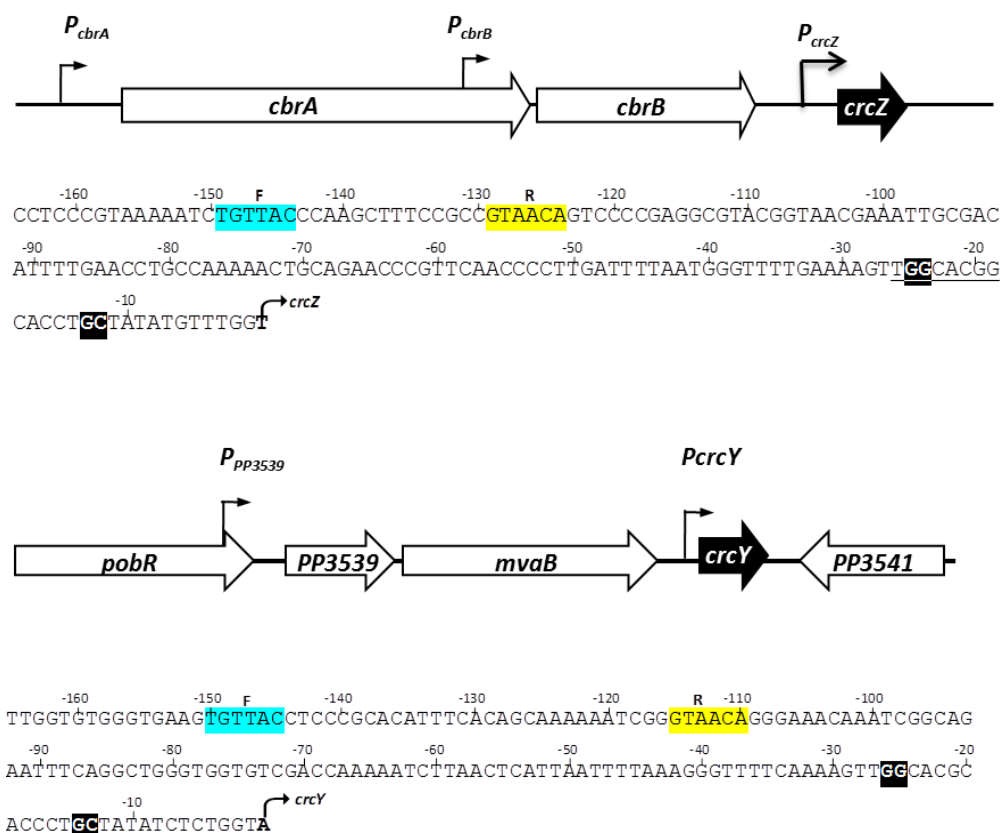


Figura 15. Representación del contexto genómico de *crcZ* y *crcY*. Diagrama de la organización génica de *crcZ* (arriba) y *crcY* (abajo) en *P. putida* y detalle de la secuencia de su región promotora desde las posiciones -164 y -165 hasta el inicio de transcripción de *crcZ* (T) y *crcY* (A). Las secuencias subrayadas con cajas negras corresponden a posibles promotores tipo σ^N ; las cajas en azul, posibles subsitios de unión de CbrB tipo F (TGTTAC); las cajas en amarillo, posibles subsitios de unión de CbrB, tipo R (GTAACA).

En el caso del promotor de *crcY*, la región intergénica comprende 182 pb entre el codón de *stop* del gen *PP3540* (*mvaB*) y el inicio de la transcripción de *crcY* descrito en (Moreno et al., 2012). Ensayos de *primer extension* realizados en nuestro laboratorio

localizaron este inicio en una adenina (Garcia-Maurino et al., 2013). En esta secuencia, también se localizaron dos posibles subsitios de unión de CbrB que cumplían la secuencia consenso (TGTTAC; subsitio F, y GTAACA; subsitio R). En este caso los subsitios se encontraban separados por 29 nucleótidos. Asimismo, se encontró un posible promotor dependiente de σ^N a una distancia adecuada del inicio de la transcripción (Figura 15).

4.1.2. Análisis *in vivo* de la expresión de *CrcZ* y *CrcY*

Con objeto de estudiar el control transcripcional ejercido por CbrB sobre *crcZ* y *crcY*, se construyeron fusiones transcripcionales al gen *lacZ* por amplificación por PCR de DNA genómico de *P. putida* con las parejas de oligonucleótidos FuscrcZF Eco/ ZbisBam y FusioncrcYF/ FusioncrcYRbisBam, respectivamente. Los fragmentos de DNA resultantes cubren la región promotora de *crcZ* y *crcY* desde las posiciones -298 y -195, respectivamente, hasta la posición +1. Los fragmentos se clonaron en el vector pMPO234 digerido con EcoRI/BamHI para generar los plásmidos pMPO1316 y pMPO1314 respectivamente.

Las fusiones transcripcionales *crcZ::lacZ* y *crcY::lacZ* se ensayaron mediante análisis de la actividad β -galactosidasa en los fondos genéticos silvestre y $\Delta cbrB$ en condiciones de represión catabólica (LB) y de desrepresión (succinato). En la estirpe silvestre, los niveles de expresión de *crcZ* y *crcY* fueron mayores en medio mínimo con succinato como fuente de carbono en comparación con el medio LB (2 y 5 veces veces respectivamente) (Figura 16A, izquierda). Es decir, los RNAs pequeños se expresaban de forma más abundante en condiciones de ausencia de represión catabólica (no-CRC). Cuando los niveles de expresión de las fusiones transcripcionales a la región promotora de ambos genes se monitorizaron en un fondo mutante $\Delta cbrB$, la actividad β -galactosidasa fue considerablemente más baja en ambos medios de cultivo (Figura 16A, derecha). Por tanto, la expresión de los transcritos de *crcZ* y *crcY* desde los promotores analizados era totalmente dependiente de CbrB.

A pesar de que nuestros resultados indican que la expresión de una fusión a *PcrcY* mostraba una dependencia de CbrB prácticamente absoluta, datos previos mostraban que la expresión de *crcY* no era totalmente dependiente de CbrB cuando se analizaba la cantidad total de transcrito mediante RT-qPCR (Moreno et al., 2012). Para aclarar estos datos aparentemente contradictorios, se cuantificó la cantidad total de

transcritos de *crcZ* y *crcY* mediante RT-qPCR utilizando oligonucleótidos que hibridaban aguas abajo del inicio de la transcripción de ambos genes (*crcZ*49-1Q/*crcZ*99-2Q y *crcY*439-3Q/*crcY*490-4Q, respectivamente). El patrón de expresión en la estirpe silvestre fue equivalente al observado con las fusiones transcripcionales para la estirpe silvestre, siendo 5 y 13 veces superior en un medio mínimo con succinato respecto al medio LB, para *crcZ* y *crcY*, respectivamente (Figura 16B, izquierda). Sin embargo, cuando se analizó la transcripción en el fondo mutante $\Delta cbrB$, se detectaron niveles de transcripción de *crcY* significativos en el medio con succinato (la mutación solo redujo 3 veces los niveles de *crcY* en comparación con la reducción de 17 veces observada para *crcZ*) (Figura 16B, derecha). Estos resultados sugerían que, efectivamente, parte de la transcripción de *crcY* era independiente de CbrB, y quizás provenía de la transcripción desde un promotor localizado aguas arriba del ya descrito.

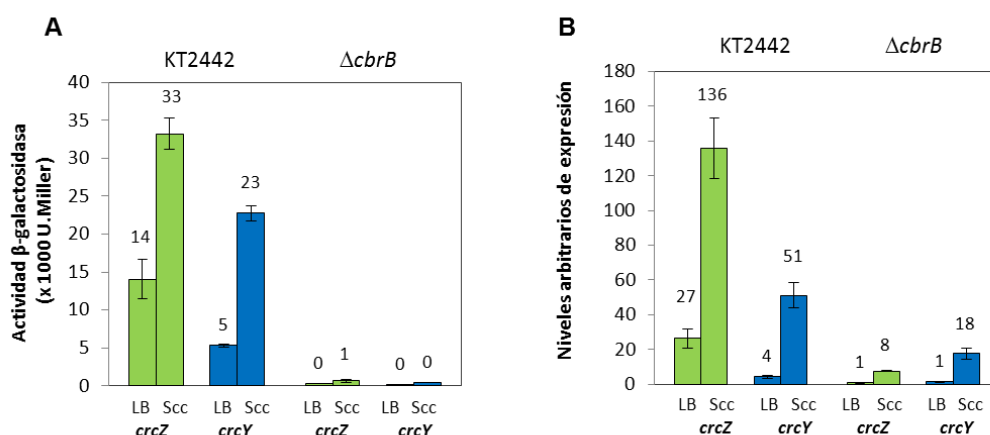


Figura 16. Niveles de expresión de *crcZ* y *crcY*. **A)** Expresión medida como actividad β -galactosidasa de las fusiones transcripcionales *PcrcZ::lacZ* y *PcrcY::lacZ* en condiciones de represión catabólica (CRC) (LB) y condiciones libres de RC (Scc) en las estirpes silvestre KT2442 y mutante $\Delta cbrB$. Las barras verdes representan el vector pMPO1316 con *crcZ::lacZ* y las azules el vector pMPO1314 que contiene *crcY::lacZ*. **B)** Expresión medida como cantidad de transcritos de *crcZ* y *crcY* obtenida por RT-qPCR en condiciones de CRC (LB) o no-CRC (medio mínimo con succinato; Scc) en las estirpes silvestre KT2442 y mutante $\Delta cbrB$. Las barras verdes representan la transcripción de *crcZ* y las azules la de *crcY*. Los valores mostrados son la media de al menos tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

4.1.3. Análisis de la transcripción de *crcY*

El contexto genómico de *crcY* localiza este gen aguas abajo de los genes *pobR*, *PP3539* y *mvaB* (Figura 17). Los análisis de predicción de agrupaciones génicas en una misma unidad transcripcional sugieren que los genes *PP3539* y *mvaB* se transcriben en forma de operón (Mao *et al.*, 2009), localizándose la región promotora para este posible operón aguas arriba del gen *PP3539*. Además, se ha demostrado que para complementar ciertos fenotipos relacionados con la formación de biofilms de un mutante *mvaB*, es necesaria la transcripción desde un promotor localizado en el extremo 3' de *pobR* (Lopez-Sanchez *et al.*, 2013).

Para estudiar la posibilidad de que existiera un promotor aguas arriba del gen *PP3539* desde donde se pudiera estar dando una transcripción *read-through* y que permitiese transcribir *crcY*, se cuantificaron los niveles de transcripción mediante RT-PCR utilizando dos parejas de oligonucleótidos que amplificasen un amplicón localizado dentro de la región codificante de *crcY* (*a2*) y otro localizado en el extremo 3' de *mvaB* y que comprendía parte de la región promotora de *crcY* (*a1*). El amplicón *a1* (*mvaB*) contenía 232 pb y se amplificó con los oligonucleótidos *mvaB888F/ crcY58R*, mientras que el amplicón *a2* (*crcY*) contenía 232 pb y se amplificó con los oligonucleótidos *crcY76F/ crcY308R* (Figura 17).

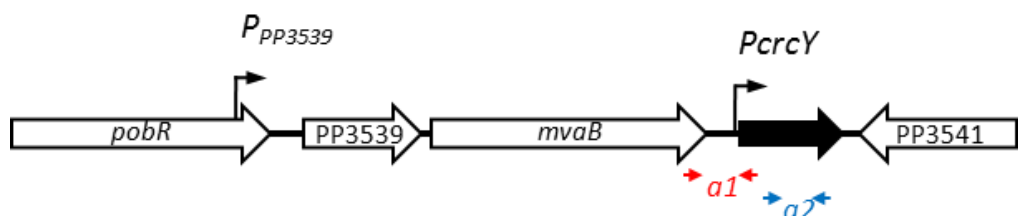


Figura 17. Representación del contexto genómico de *pobR-PP3539-mvaB-crcY*.

Diagrama que muestra el contexto genómico de *PP3539-mvaB-crcY* y sus amplicones para cada par de oligonucleótidos empleados para el análisis de expresión mediante RT-PCR (en rojo, amplicón *a1*; en azul, amplicón *a2*).

El análisis de la transcripción mediante RT-PCR semi-cuantitativa con diferentes diluciones de cDNA en el amplicón *a2* dentro de *crcY* reproducen los resultados observados con anterioridad por RT-qPCR (Figura 16), es decir, mayor expresión en succinato que en LB, y menor expresión en un mutante $\Delta cbrB$, en comparación con la

estirpe silvestre. Sin embargo, la amplificación en el fondo mutante mostró que una parte de la transcripción era independiente de CbrB. Esta transcripción era considerable, ya que solo se apreciaban las diferencias cuando se utilizaban cantidades muy bajas de cDNA (Figura 18). Los análisis del amplicón *a1* mostraron que existía efectivamente cierta transcripción proveniente de un promotor aguas arriba. Los niveles de transcripción provenientes de este posible promotor aguas arriba, eran independientes de la presencia de CbrB y del medio de cultivo (Figura 18). Por tanto, se puede deducir que las diferencias observadas previamente en la transcripción proveniente de *PcrcY* entre las estirpes silvestre y mutante *cbrB* quedaron enmascaradas por la transcripción proveniente de un promotor aguas arriba independiente de CbrB y fueron solo detectables cuando la concentración de cDNA era baja.

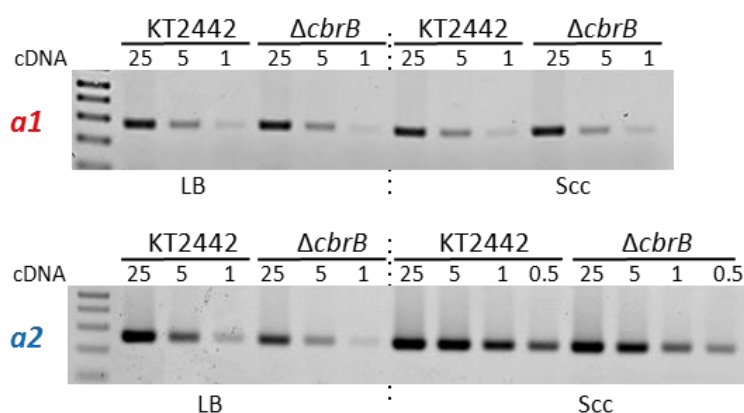


Figura 18. RT-PCR para la detección de transcritos provenientes de la región intergénica de *mvaB-crcY*. RT-PCR a partir de cDNA de RNA total amplificada con oligonucleótidos de la región intergénica de *mvaB-crcY* (*a1*) (arriba) y oligonucleótidos dentro de *crcY* (*a2*) (abajo) de las estirpes *Pseudomonas putida* KT2442 y el mutante $\Delta cbrB$ en LB o medio mínimo con succinato como fuente de carbono. Como control de carga se utilizaron oligonucleótidos para el rRNA 16S (*rrn-f27/rrn-r519*; amplifican 523 pb) (no se muestra). La cantidad de cDNA en nanogramos usada como molde para la PCR en cada condición experimental se indica en la parte superior de los paneles (entre 25 y 0,5 ng).

Para visualizar el posible transcrito proveniente desde un promotor localizado aguas arriba de *mvaB*, se realizaron ensayos de *Northern Blot* para las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ en un medio LB y en un medio mínimo con succinato (CRC y no-CRC), utilizando dos sondas amplificadas por PCR que hibridaban dentro de la región codificante

de *mvaB* (oligonucleótidos mvaB418F/ mvaB747R; 349 pb) y de *crcY* (oligonucleótidos crcY2Fwd/ crcY366Rev; 365 pb). La hibridación con la sonda que contenía *mvaB* no permitió detectar ningún transcrito de tamaño grande que correspondiese a un promotor aguas arriba (no se muestra). Para comprobar que ambas sondas se encontraban en perfecto estado, se realizó un ensayo Dot-Blot usando concentraciones decrecientes de DNA genómico y el producto de una PCR específica con los mismos oligonucleótidos usados para hacer la sonda para *mvaB* y *crcY*, y se observó que ambas sondas eran capaces de detectar su diana con alta sensibilidad (Figura 19).

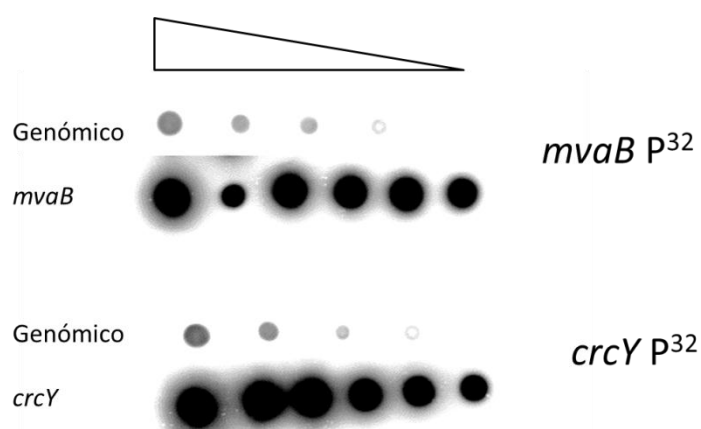


Figura 19. Ensayo de Dot-Blot con RNA total con sondas de *mvaB* y *crcY*. Ensayo Dot-Blot realizado con sondas marcadas con P^{32} para *mvaB* (arriba) y *crcY* (abajo). Se añadieron concentraciones decrecientes de DNA genómico de *P. putida* (8, 4, 2, 1 y 0,5 μ g de DNA, respectivamente) y el producto de PCR conteniendo *mvaB* o *crcY* en concentraciones decrecientes de 200, 50, 25, 12,5, 6,2, 3,1 ng de DNA.

La falta de señal en los ensayos de *Northern Blot* al hibridar el RNA total con una sonda que contenía la secuencia de *mvaB* podría ser atribuida a que los niveles de transcripción sean muy bajos, o bien a que exista un procesamiento rápido de ese transcrito de gran tamaño. Por otro lado, cuando la detección en el *Northern Blot* se realizó usando una sonda que contenía *crcY*, se detectó de forma muy eficiente un RNA de pequeño tamaño, correspondiente a CrcY (Figura 20). Además, los niveles detectados se correspondían fielmente con los resultados previos obtenidos por RT-qPCR, que mostraban que los niveles de CrcY eran superiores en succinato comparado con el medio LB. Sorprendentemente, en el mutante $\Delta cbrB$ se detectaron niveles considerablemente altos de CrcY maduro, aunque habíamos descrito que la transcripción desde *PcrcY* era independiente de CbrB (Figura 20). Esto podía ser debido a un procesamiento rápido del

transcrito de gran tamaño, proveniente del promotor localizado aguas arriba, que no es dependiente de CbrB, dando lugar a un RNA de pequeño tamaño, correspondiente a un CrcY maduro.

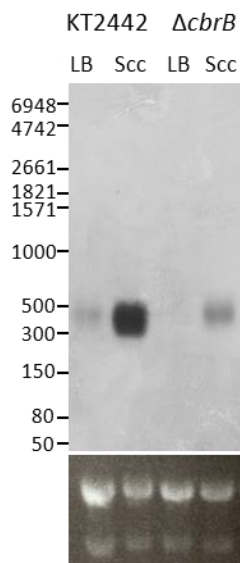


Figura 20. Ensayo de *Northern Blot* de RNA total con una sonda que contiene *crcY*.

Ensayo de *Northern Blot* usando una sonda que contenía *crcY* con RNA total para las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ (MPO406) en fase exponencial temprana ($A_{600} = 0,3$) cultivado en LB y medio mínimo con succinato como fuente de carbono. El RNA total se tiñó con bromuro de etidio y se utilizó como control de carga. Se muestra una imagen representativa de al menos tres réplicas del *Northern Blot*.

Para estudiar el posible procesamiento del transcrito de gran tamaño que contiene *crcY*, se realizó un tratamiento del RNA total de las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ con la exonucleasa TEX (*Terminator 5' phosphate-dependent exonuclease*, Epicentre), que digiere específicamente RNAs con un monofosfato en el extremo 5', que han sido procesados desde un transcrito de mayor tamaño. Sin embargo, la actividad exonucleasa no es capaz de procesar los transcritos primarios que conservan los tres fosfatos en su extremo 5'. Como control de degradación por TEX, se usó una sonda que contenía la secuencia del rRNA 16S que proviene del procesamiento de una unidad transcripcional superior de rRNA y que es, por lo tanto, susceptible de ser degradada por la actividad TEX.

Tras el tratamiento con la exonucleasa TEX, se realizó un *Northern Blot* con las muestras usando una sonda de 365 pb que contenía la secuencia de *crcY* (amplificada con los oligonucleótidos *crcY2Fwd/ crcY366Rev*). Además, esa misma membrana se rehibridó con una sonda control de 523 pb que contenía la secuencia del rRNA 16S (amplificada con los oligonucleótidos *rrn-f27/rrn-r519*). El tratamiento con TEX del RNA de la estirpe silvestre resultó en una casi completa eliminación del rRNA 16S (con un remanente inferior al 8% y prácticamente indistinguible del fondo). Los niveles de *CrcY* se redujeron al 40% de la señal correspondiente al RNA sin tratar, sugiriendo que *CrcY* en la estirpe silvestre es una mezcla de RNA procesado sensible a TEX y transcritos primarios resistentes a TEX (Figura 21, izquierda). Sin embargo, la señal *CrcY* en el mutante $\Delta cbrB$ se perdió completamente tras el tratamiento con TEX (5% de la señal correspondiente al RNA sin tratar, indistinguible del fondo), por tanto mostrando que, aparentemente, todo el *CrcY* proviene de un transcrito procesado en esta estirpe (Figura 21, derecha).

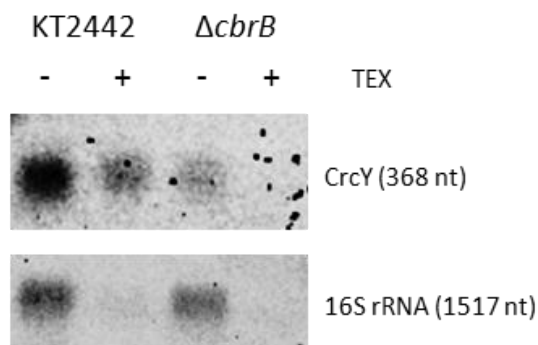


Figura 21. Ensayo de *Northern Blot* con RNA tratado con TEX con una sonda que contiene *crcY*. Ensayo de *Northern Blot* usando RNA total de las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ cultivadas en un medio mínimo con succinato como fuente de carbono. Cuando fue preciso, las muestras de RNA se trataron con TEX antes de transferirlas a la membrana. Se utilizaron las sondas que contenían la secuencia de *crcY* y del 16S *rRNA* consecutivamente, deshibridando la membrana entre una y otra. Se muestra una imagen representativa de una de las tres réplicas realizadas.

4.1.3.1. Regulación transcripcional del promotor de *PP3539*

Una vez identificado un transcrito de gran tamaño que contenía *crcY*, se procedió a estudiar la regulación del posible promotor localizado aguas arriba de *PP3539* y su dependencia de *CbrB*. Para ello, se construyó el plásmido pMPO1322 que contenía una

fusión transcripcional del promotor *PP3539* al gen *lacZ*, por amplificación a partir de DNA genómico mediante PCR con los oligonucleótidos Fusion3539EcoF/ Fusion3539BamR, dando lugar un producto de 330 pb con coordenadas -311 a +19 respecto al ATG de *PP3539*. La fusión transcripcional $P_{PP3539}::lacZ$ se ensayó mediante análisis de la actividad β -galactosidasa en los fondos genéticos silvestre y $\Delta cbrB$ en condiciones de represión catabólica (LB) y de desrepresión (succinato). Los niveles de actividad β -galactosidasa del vector pMPO1322 fueron muy similares independientemente del medio de cultivo empleado y de la mutación $\Delta cbrB$, mostrando unos niveles de transcripción constantes entre 10420 y 11642 U.M. (Figura 22). Por lo tanto, podemos decir que la expresión del gen *PP3539* no se encuentra bajo el control transcripcional de CbrB.

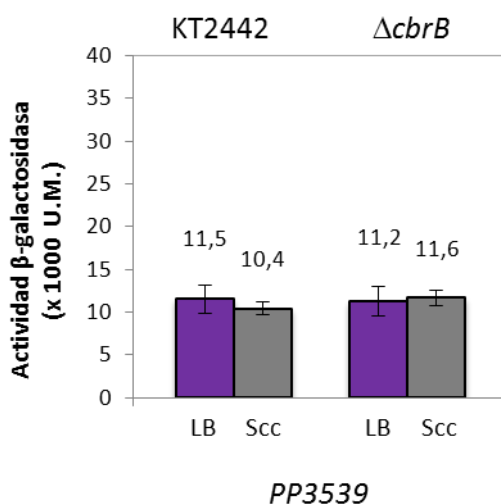


Figura 22. Regulación transcripcional de *PP3539*. Análisis de la expresión de una fusión transcripcional $P_{PP3539}::lacZ$ (pMPO1322) en las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ en LB (barras moradas) y en medio mínimo con succinato (barras grises). Los experimentos se realizaron por triplicado; se muestra el valor medio y las desviaciones estándar.

4.1.4. Construcción, purificación y complementación con la proteína CbrB fusionada a una cola de histidinas

Para estudiar la capacidad de CbrB de unirse a secuencias específicas en el DNA *in vitro*, se procedió a clonar la secuencia codificante de *cbrB* a que se le añadió la secuencia de una cola de 6 histidinas (His-tag) en su extremo amino terminal, para proceder a su purificación mediante cromatografía de afinidad. El plásmido resultante se

denominó pMPO1229. Este plásmido para la superproducción de CbrB-His₆ se construyó por amplificación mediante PCR de un fragmento de 1414 pb de *cbrB* con los oligonucleótidos 813-F1/ 813-R1 que generan los sitios de restricción NdeI y BamHI en sus extremos y su posterior clonación en el vector pET-14b, permitiendo la expresión de CbrB-His₆ desde el promotor de T7 (Mutagenex, Figura 23, A). Se decidió incorporar la cola de histidinas en el extremo amino terminal de la proteína ya que este tipo de reguladores de respuesta poseen un dominio de unión a DNA en su extremo carboxilo (Figura 23,B).

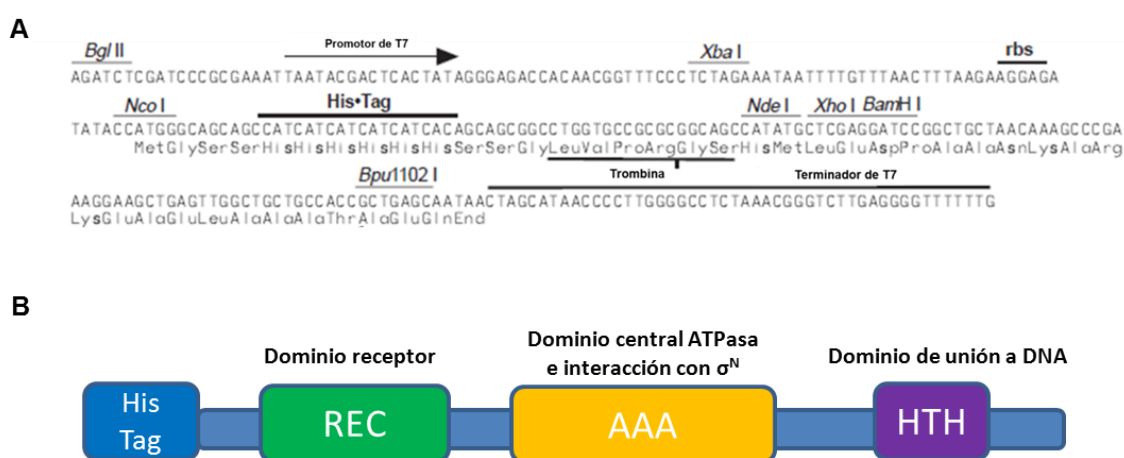


Figura 23. Esquema del vector pET14b y la proteína CbrB-His₆. (A) Secuencia de la región promotora del vector pET-14b con el sistema de expresión del promotor de T7, la secuencia correspondiente a los 6 residuos de histidina para fusionar al extremo amino de la proteína (His-Tag), la secuencia de la trombina que permite la escisión del Tag en caso de necesidad (modificada de Mutagenex) y el terminador de la transcripción de T7. En la parte inferior de la secuencia de nucleótidos se muestra la secuencia traducida. (B) Esquema de los dominios de CbrB-His₆ con la fusión de la His-Tag a su extremo amino.

La proteína CbrB se superprodujo y purificó como se describe en el apartado 3.4.3 de Materiales y Métodos, utilizando una columna de afinidad con una matriz de cobalto. La capacidad de retención de la resina de cobalto no resultó ser muy alta, ya que se eluyó una fracción muy elevada de proteína superproducida al aplicar el extracto sobre la columna (carril 3, Figura 24). Sin embargo, tras el primer lavado con imidazol a

concentración muy baja (10 nM), una gran cantidad de proteínas contaminantes fueron eliminadas, mientras que CbrB quedó retenida en la columna con gran afinidad. Tras varios lavados, se mezclaron y concentraron las fracciones de entre 20 y 500 mM de imidazol y se obtuvo una preparación pura con una concentración de 1,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, estimándose su pureza por visualización en gel de acrilamida de un 98% (carril 11, Figura 24).

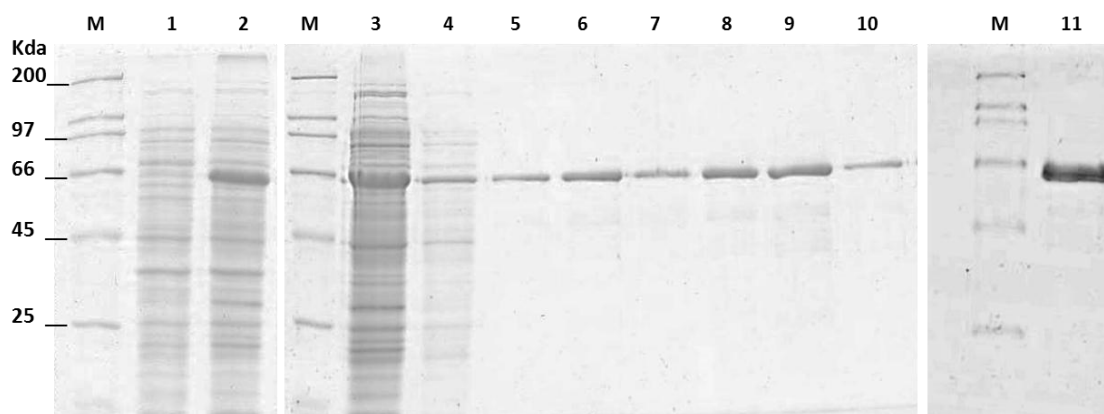


Figura 24. Gel de acrilamida con las diferentes fracciones de la superproducción y purificación de CbrB-His₆. M, marcador de peso molecular en kilodaltons (KDa); 1, cultivo antes añadir el inductor IPTG 0,5 mM; 2, cultivo tras la superproducción de CbrB-His₆; 3, fracción no retenida en la columna tras el primer pase; 4-10, lavados con imidazol en tampón de lisis a 10 mM (carril 4) ; 20 mM (carril 5); 40 mM (carril 6); 50 mM (carril 7); 100 mM (carril 8); 250 mM (carril 9) y 500 mM (carril 10); 11, Preparación final de CbrB-His₆ tras unir y concentrar todas las fracciones.

Con objeto de comprobar si la proteína purificada CbrB-His₆ era funcional *in vivo*, se clonó un fragmento XbaI/ BamHI romo del plásmido pMPO1229 que contiene CbrB-His₆ en el vector de expresión de *Pseudomonas* pVLT31 XbaI/HindIII romo para obtener el plásmido pMPO435. Se realizó un ensayo de complementación en las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ con los plásmidos pMPO435 y pMPO1316 (*crcZ::lacZ*) cultivadas en LB y se midió la actividad β -galactosidasa del promotor de *crcZ*. Como control se usó el vector vacío pVLT31. Los niveles de expresión de *crcZ* en la estirpe silvestre que contenía el plásmido de superproducción de CbrB (pMPO435) resultó ser un 157% mayor que la estirpe en el vector vacío (Figura 25). Por otra parte, el mutante $\Delta cbrB$ con el vector vacío produjo niveles de expresión de *crcZ* muy bajos pero, la introducción del plásmido

pMPO435 restauró completamente los niveles de expresión observados en la estirpe silvestre (Figura 25), lo cual indica que CbrB-His₆ se encontraba activa *in vivo*.

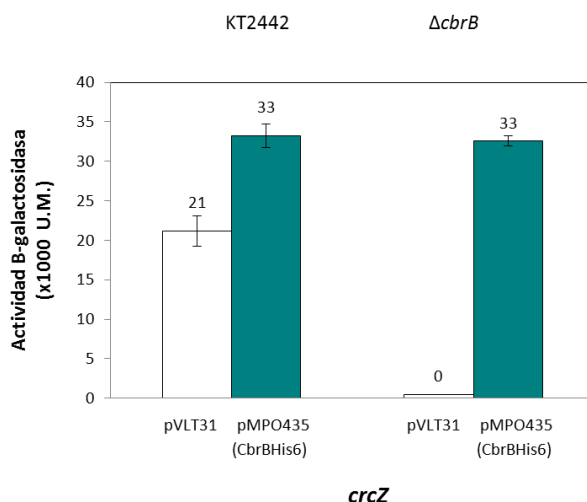


Figura 25. Ensayo de complementación del mutante $\Delta cbrB$ con la proteína CbrB-His₆.

Niveles de actividad β-galactosidasa de una fusión transcripcional *crcZ::lacZ* (pMPO1316) en las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ en LB con el plásmido vacío (pVLT31, barras blancas) y el plásmido pMPO435 que contiene CbrB-His₆ (barras verdes). Los experimentos se realizaron por triplicado; se muestra el valor medio y las desviaciones estándar.

4.1.5. Unión de CbrB a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY*

Con el objeto de determinar los residuos en el DNA con los que CbrB interacciona de forma directa, se realizaron ensayos de unión DNA-proteína a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* con cantidades crecientes de la proteína purificada CbrB-His₆ por cambios en su movilidad electroforética (EMSA). Las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* se obtuvieron por restricción XbaI/SmaI de los plásmidos pMPO391 y pMPO393 (su construcción se detalla en el apartado 4.1.5.2). Estos ensayos mostraron la formación de un complejo DNA-CbrB que era más evidente al aumentar la concentración de proteína. La afinidad en la unión de CbrB a ambas regiones promotoras fue similar en ambos casos (Figura 26, A y B). Sin embargo, la falta de definición del complejo retardado nos impidió cuantificarlo con precisión y así calcular una constante aparente de unión (K_{app}), aunque podemos estimar que se encontraba en torno a 1 μM (Figura 26, C). La cuantificación de

los complejos retardados CbrB-DNA no se ajustaron a una hipérbola rectangular, rasgo característico de proteínas que se unen a un único sitio en el DNA (Figura 26, C), sugiriendo que CbrB podría estar uniéndose a múltiples subsitios de forma simultánea.

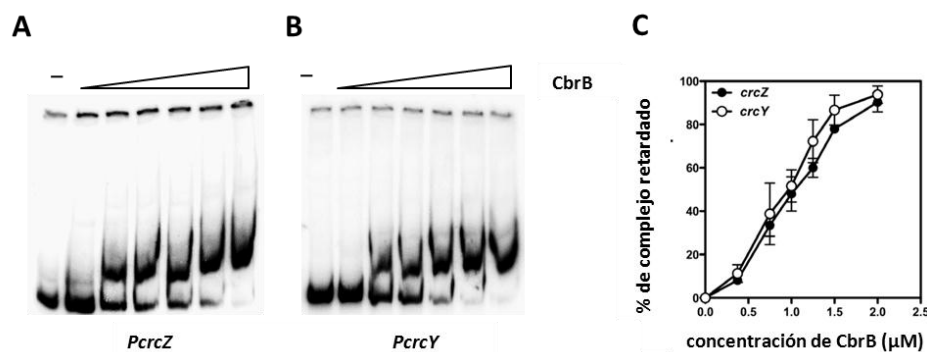


Figura 26. Ensayo de retraso en la movilidad electroforética (EMSA) que refleja la unión de CbrB a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY*. A y B) EMSA de un fragmento lineal conteniendo las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY*, respectivamente. Las concentraciones de CbrB fueron 0, 0,38, 0,75, 1, 1,25, 1,5 y 2 μM (con un ratio molar DNA: dímero de CbrB de 1:127, 1:250, 1:333, 1:417, 1:500 y 1:667 respectivamente). C) Ajuste de las curvas obtenidas tras la cuantificación del porcentaje de complejo retardado respecto a la concentración de CbrB. Los valores y las barras de error muestran las medias y la desviación estándar de tres experimentos independientes.

4.1.5.1. Efecto de la fosforilación en la unión *in vitro*

La proteína CbrB posee un residuo de aspártico en la posición 52, que está conservado entre los miembros de su familia, y que podría ser susceptible de ser fosforilado por la proteína histidina quinasa del sistema de dos componentes. Se ha descrito en otras proteínas de la familia, como NtrC, que juega un papel importante en el mecanismo de activación transcripcional. Con el objeto de analizar si la fosforilación podía tener alguna relevancia en la unión de CbrB al DNA, y posterior activación de la proteína, se realizó un ensayo de retardo en gel como el descrito en el apartado anterior, aunque previamente se incubó la proteína con un compuesto donador de fosfato como el acetil fosfato. Este compuesto había sido empleado previamente en el laboratorio para fosforilar proteínas de la familia de forma satisfactoria (Hervas et al., 2010). La cantidad de complejo DNA-proteína no aumentó sustancialmente en presencia de acetil fosfato, lo que

sugería que la fosforilación no afectaba significativamente la afinidad de unión de CbrB al DNA *in vitro* (Figura 27).

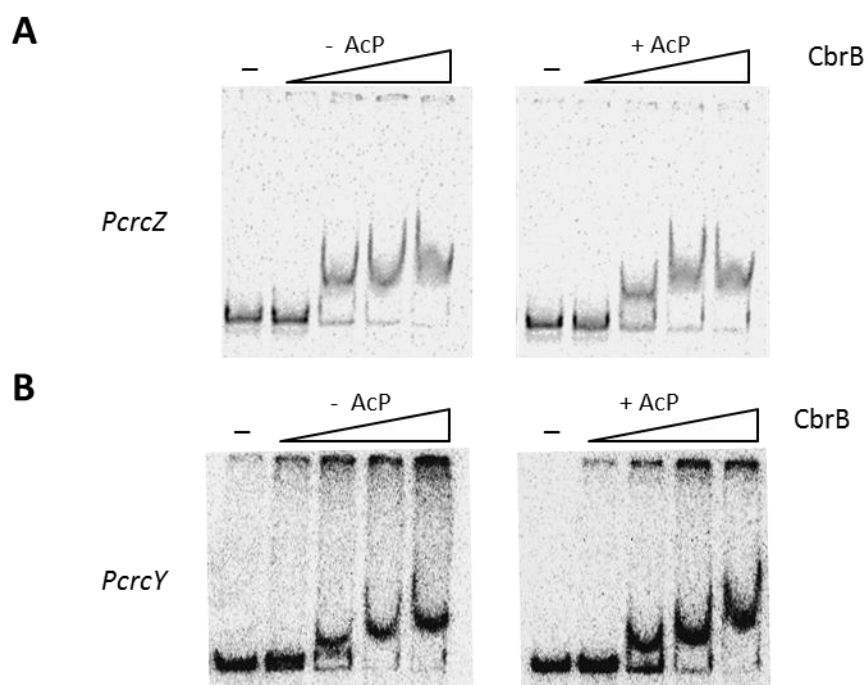


Figura 27. Efecto de la fosforilación en la unión de CbrB a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY*. A y B, muestran la falta de efecto de la fosforilación en la unión de CbrB a *PcrcZ* y *PcrcY*, respectivamente. Las concentraciones de CbrB en este ensayo fueron 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 μM (Relación molar DNA: dímero de CbrB de 1:167, 1:333, 1:500 y 1:667, respectivamente).

4.1.5.2. Localización de los subsitos de unión de CbrB en *PcrcZ* y *PcrcY*

Para identificar los residuos con los que CbrB interaccionaba en su unión a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* se hicieron ensayos de protección frente a digestión con DNasa I (ensayos de *footprint*). Para los ensayos de *footprint* se diseñaron dos sondas para cada promotor que contenían los potenciales sitios de unión de CbrB identificados por análisis de secuencia, de forma que se permitía el marcaje radiactivo de una de las dos cadenas de DNA. Todas las sondas se generaron por PCR y se clonaron en el plásmido pUC18Sfi digerido XbaI/SmaI, utilizando los oligonucleótidos que figuran en la Tabla 5. Para las reacciones de secuenciación utilizadas como marcador de tamaño

se emplearon los plásmidos pMPO390, pMPO391, pMPO392 y pMPO393 como molde y los oligonucleótidos footcrcZ(3)cad+, footcrcZ(2)cad-, footcrcYcad+ y footcrcYcad-, respectivamente, para cada sonda en cada orientación.

Tabla 5. Sondas para la realización de los ensayos de *footprint* con CbrB.

Promotor	Cadena marcada	Oligonucleótidos	Plásmido resultante
<i>PcrcZ</i>	Cadena -	crcZXbalcad+ / crcZSmalcad+	pMPO390
<i>PcrcZ</i>	Cadena +	crcZXbalcad- / crcZSmal(2)cad-	pMPO391
<i>PcrcY</i>	Cadena -	crcYXbalcad+ / crcYSmalcad+	pMPO392
<i>PcrcY</i>	Cadena +	crcYXbalcad- / crcYSmalcad-	pMPO393

El patrón de digestión con DNAsaI permitió detectar distintas protecciones e hipersensibilidades entre las posiciones -150 a -100 de *PcrcZ* y *PcrcY*, que se hacían más evidentes según se incrementaba la concentración de CbrB (Figura 28). En el caso del promotor de *crcZ*, las dos regiones protegidas más aguas arriba del inicio de la transcripción podrían representar un sitio de unión palindrómico de CbrB, que además coincidía exactamente con la secuencia de unión de CbrB y el espaciamiento entre subsitios descritos para *P. aeruginosa* (subsitios F y R; TGTTAC-N₁₄-GTAACA) (Abdou et al., 2011). También aparecieron bandas hipersensibles a la digestión con DNasa I dentro de las secuencias identificadas como posibles sitios de unión de CbrB, lo que sugiere cambios en la topología del DNA al unirse el regulador. Dentro de la zona protegida aguas abajo de las anteriormente citadas, detectamos una secuencia que coincidía de forma imperfecta el subsitio R (denominada R2), localizada en la zona más aguas abajo de la región protegida, centrada a -104 (GTAACg) y separada por 16 pb de los subsitios F y R (denominados ahora F1 y R1) aguas arriba (Figura 28,C).

El patrón de *footprint* que se obtuvo para la región promotora de *crcY* fue algo distinto pues se identificaron claramente dos regiones protegidas independientes. La región más aguas arriba, contenía un subsitio F1 perfecto (TGTTAC). Sin embargo, el correspondiente subsitio R1, localizado justo al final pero casi fuera de la región protegida aguas arriba, estaba muy degenerado (acAgCA). Cuatro nucleótidos aguas arriba de este subsitio R degenerado, se encontró otro subsitio F (F2) degenerado (TtTcAC) que podría contribuir a su vez a la unión. No se localizaron posiciones hipersensibles entre estos dos subsitios. En la región protegida aguas abajo, se localizó un subsitio R (R') perfecto (GTAACA) separado por 9 pb del subsitio R aguas arriba (R1), y un subsitio R imperfecto

(GaAACA) (R2) separado 17 pb del subsitio R1, en la misma posición que el subsitio R2 más aguas abajo encontrado en *PcrcZ* (Figura 28,C).

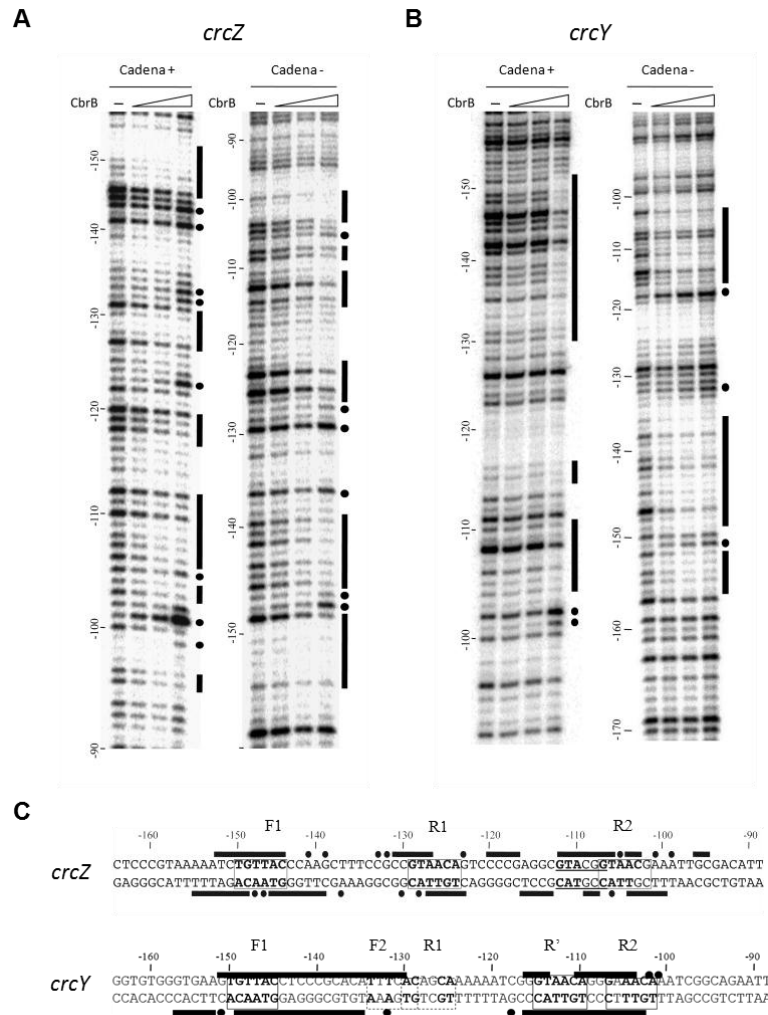


Figura 28. Ensayo de protección con CbrB frente a digestión con DNasa I de las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* de *P. putida*. A y B) patrón de *footprint* de la cadena + y la cadena – de *PcrcZ* (A) y *PcrcY* (B) a concentraciones de CbrB de 0, 0,75, 1,5 y 2 μ M (con un ratio molar DNA: dímero de CbrB de 1:250, 1:500 y 1:667 respectivamente). Las barras negras señalan las zonas protegidas y los puntos indican las posiciones hipersensibles. Se muestran las coordenadas respecto al inicio de la transcripción de *crcZ* y *crcY*. C) Diagrama de las regiones protegidas e hipersensibilidades en la secuencia de las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY*, con las mismas indicaciones que en el patrón de *footprint*. Los recuadros sobre la secuencia señalan la posición de los posibles subsitios de unión de CbrB, denominados F1, R1 y R2 para *crcZ* y F1,F2, R1, R' y R2 para *crcY*.

4.1.5.3. Comparación de las secuencias promotoras de *crcZ* y *crcY* con otras *Pseudomonas*.

La comparación de la secuencia promotora de *crcZ* de *P. putida* con la de otras *Pseudomonas* mostró que los tres subsitios identificados por *footprint* (F1, R1 y R2) estaban muy conservados en otras especies del género y que además se conservaba también la misma posición relativa. Sorprendentemente, esto se hacía extensible para el subsitio R2 (GTAACg) que no había sido descrito con anterioridad en ninguna otra especie estudiada como *P. aeruginosa* o *P. fluorescens* SBW25 (Figura 29).

<i>PcrcZ</i>	F1	R1	R2	
ACCTCCCGTAAAAATCTGTTACCCAAGCTTTCCGCCGTAACAGTCCCGAGGCGTACGTAACGAAATTGCGACATTTTGAA				KT2440
TAACACCCCTGCAACCTGTTACCGCGGACGTACCGCGTAACAGAAACCGGGTTTCATCGTAACGGAAACCCCGGTTTTTTGTG				PAO1
CAGATGTGAAAAAATCTGTTACCGCGGATATTTCCGCGTAACAGAAACCGGGGCTTACGTAACGAAGCCCGGCTTTTTTTGG				SBW25
AGGGCTGCGTGCAAACTGTTACCGCAAGCACTTCACGTAACAGAAACCGGGGCTTACGTAACGCAGGCCCGGCTTTTTTGT				DC3000
TGAATGTGAAAAAATCTGTTACCTCAGCTTTTTTCACGTAACAGAAACCGGGGTTTACGTAACGAACCCCGGCTTTTTTTTCG				BRASS
AGTTCCCGCAAAAATCTGTTACCCCTGCCCGATGGCGTAACAGCCTTGGAGGCATACGTAACGAAATTTCTACATTTGCC				L48
CGCCGCGCGGTAATTGTTACCGCCGCGCGCATCGTTGTAACAGAAACCGGGAGCATCGTAACGACGCCCGGTTTTTTTCT				A1501
ATGGGTTCACAGGTGTTACCGTTTCAATATCTCGTAACAGAAAGCCGGGTCTAACGTAACGAAACCCCGGCTTTTTTTCTA				NK-01

<i>PcrcY</i>	F1	F2	R1	R'	R2	
TTGGTGTGGGTGAAGTGTACCTCCGSCACATcTcAcAgCAAAAAATCGGTAACAGCGGAAACAATCGGCAGAAATTCAGG						KT2440
GGTTGAGTAGCGTAGCGGTAACATGTTACCGCACGTCTACACATCGAATAACAGCGGAACAATTTTGTGTAATTTGCC						SBW25
CATTGTGCGGCGGGTGTACCGGCCATTCCGATCTGGGGCGGGAACGAGTAACACGGGAACAAGTTTGTGCAATTTGTTGG						PF5
AACTTGTACAGAGTGTACCTCCCGCGAGGTTGTTGAGGCAAGCGGTAACACGGGAACAATCGAAGCGGAAACAGAC						DC3000
AACTTGCCACAGAGTGTACGTGTCGCCCGGTGAGGACAGACAAACGGTAACACGGGAACAATCGGCCGCGAGATTCAAC						B728A
TTGGTGTGGGTGAAGTGTACCTCCGSCACATcTcAcAgCAAAAAATCGGTAACAGCGGAAACAATCGGCAGAAATTCAGG						F1
GAATGTGTGGGCGAGTGTACCGCCCGCACAGCGGAcAgCAAAAAATCGGTAACAGCGGAAACAATCGACAGAAATTCAGG						W619
GCAGGCGCAGGTGAGGTGTACCGCTGGCCTTGTACAGCGGTGAACGAGTAACAGCGGAAACAATTTGTGAGGTCTGGCGC						BRASS
GCAACTGTGGGTGGAGTGTACCGCCACAGATCGCATAGGAAATTCGGGTAACAGCGGAACAATTCGACAGAAATTCAC						L48
CACAGTGAGGGATGTTACCGCCGAGCGGAAACGTGGGCACAGCGAATAACAGCGGAACAATTTGTGTTGCTTGCCT						Pf0-1
AACTTGTACACAGTGTACCGTCCCGAGTCCAGTCCAGACAAACGGTAACACAGGAACAATCGGCCACTGAATCAGAT						1448A

Leyenda

KT2440: *Pseudomonas putida* KT2440, **PAO1:** *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, **SBW25:** *Pseudomonas fluorescens* SBW25, **DC3000:** *Pseudomonas syringae* pv. tomato str. DC3000, **BRASS:** *Pseudomonas brassicacearum* subsp. Brassicacearum, **L48:** *Pseudomonas entomophila* L48, **A1501:** *Pseudomonas stutzeri* A1501, **NK-01:** *Pseudomonas mendocina* NK-01, **Pf-5:** *Pseudomonas fluorescens* Pf-5, **B728a:** *Pseudomonas syringae* pv. syringae B728a, **F1:** *Pseudomonas putida* F1, **W619:** *Pseudomonas putida* W619, **L48:** *Pseudomonas entomophila* L48, **Pf0-1:** *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1, **1448A:** *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola 1448^A.

Figura 29. Alineamiento de las secuencias de las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* en diferentes especies de *Pseudomonas*. El alineamiento se realizó con las secuencias aguas arriba de las GG conservadas del promotor σ^N . Las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* comprenden las coordenadas desde -165 a -84.

La comparación de la secuencia promotora de *crcY* de *P. putida* con otras especies, reveló una alta conservación del subsitio F1 más aguas arriba (TGTTAC) y de los dos subsitios R' y R2 (GTAACA y GaAACA). Sin embargo los posibles subsitios R1 y F2 (acAgCA y TtTcAC) solo estaban conservados en las especies de *P. putida* (KT2440, F1 y W619) pero no en el resto de *Pseudomonas* analizadas (Figura 29).

4.1.5.4. Mutagénesis puntual de los subsitios de unión de CbrB en las secuencias promotoras de *crcZ* y *crcY*.

Con el objeto de analizar la relevancia de cada uno de los subsitios de unión de CbrB en la activación de *crcZ* y *crcY*, se construyeron fusiones transcripcionales al gen *lacZ* con fragmentos de las regiones promotoras que incluían modificaciones de cada uno de los subsitios de unión de CbrB (F1, R1, R' y R2) predichos. De este modo, se construyeron 11 vectores que tenían las siguientes modificaciones:

- pMPO436: (*PcrcZF1*). Plásmido derivado de pMPO1316 (*PcrcZ::lacZ*) en el cual se ha introducido mediante PCR solapante con los oligonucleótidos Zmut1F/ Zmut1R una mutación en el subsitio F1 (TGTTAC) que pasa a ser gactct.
- pMPO437: (*PcrcZR1*). Plásmido derivado de pMPO1316 (*PcrcZ::lacZ*) en el cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Zmut2F/ Zmut2R una mutación en el subsitio R1 (GTAACA) que pasa a ser tgctac.
- pMPO438: (*PcrcZR2*). Plásmido derivado de pMPO1316 (*PcrcZ::lacZ*) en el cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Zmut3F/ Zmut3R una mutación en el subsitio R2 (GTAACg) que pasa a ser taccgt.
- pMPO439: (*PcrcYF1*). Secuencia derivada de pMPO389 (*PcrcY*) en la cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut1F/ Ymut1R una mutación en el subsitio F1 (TGTTAC) que pasa a ser gactct.
- pMPO440: (*PcrcYR1*). Secuencia derivada de pMPO389 (*PcrcY*) en la cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut2F/ Ymut2R una mutación en el subsitio R1 (acAgCA) que pasa a ser tgcgac.

- pMPO441: (*PcrcYR'*). Secuencia derivada de pMPO389 (*PcrcY*) en la cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut3F/ Ymut3R una mutación en el subsitio R' (GTAACA) que pasa a ser taccgt.
- pMPO442: (*PcrcYR2*). Secuencia derivada de pMPO389 (*PcrcY*) en la cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut4F/ Ymut4R una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat.
- pMPO443: (*PcrcYR1R'*). Plásmido derivado de pMPO440 (*PcrcYR1::lacZ*) en el cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut3F/ Ymut3R una mutación en el subsitio R' (GTAACA) que pasa a ser taccgt. Este vector contiene mutaciones en los subsitios R' y R1.
- pMPO444: (*PcrcYR1R2*). Plásmido derivado de pMPO440 (*PcrcYR1::lacZ*) en el cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut4F/ Ymut4R una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. Este vector contiene mutaciones en los subsitios R1 y R2.
- pMPO445: (*PcrcYR'R2*) plásmido derivado de pMPO441 (*PcrcYR':lacZ*) en el cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut5F/ Ymut5R una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. No se usaron los oligonucleótidos Ymut4F/ Ymut4R porque si no se revertía la mutación de GTAACA al estar incluida esta secuencia en los oligonucleótidos. Este vector contiene mutaciones en los subsitios R' y R2.
- pMPO446: (*PcrcYR1R'R2*). Plásmido derivado de pMPO443 (*PcrcYR1R':lacZ*) en el cual se ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos Ymut5F/ Ymut5R una mutación en el subsitio R2 (GaAACA) que pasa a ser tctcat. Este vector contiene mutaciones en los subsitios R1, R' y R2.

La construcción de los plásmidos pMPO436, pMPO437 y pMPO438 se realizó por amplificación del fragmento izquierdo de la PCR solapante con el oligonucleótido fuscrcZF Eco y el oligonucleótido *reverse* de cada pareja mutagénica (Zmut1R, Zmut2R y Zmut3R, respectivamente), usando el plásmido pMPO1316 como molde. Del mismo modo, el fragmento derecho se amplificó usando el oligonucleótido ZbisBam junto con el oligonucleótido *forward* de cada pareja mutagénica (Zmut1F, Zmut2F y Zmut3F,

respectivamente). Ambos fragmentos (izquierdo y derecho) se usaron como molde de la PCR solapante utilizando los oligonucleótidos fuscrcZFeco y ZbisBam. En todos los casos se obtuvo un fragmento de DNA 313 pb (coordenadas -298 a +1) que se digirió con EcoRI/BamHI y se clonó en el vector de fusiones transcripcionales al gen *lacZ* pMPO234. En la figura 30 se muestran de forma esquematizada los fragmentos de la región promotora de *crcZ* que contiene cada vector.

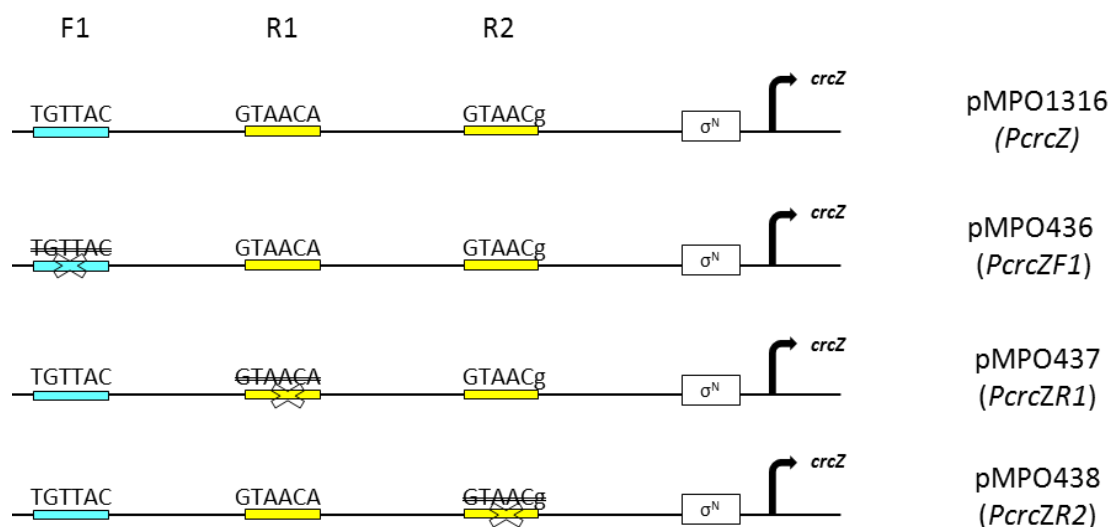


Figura 30. Esquema de la construcción de fusiones con mutaciones puntuales del promotor de *crcZ* a *lacZ*. Flechas, inicio de la transcripción de *crcZ*; cajas blancas, posible promotor σ^N ; cajas azules, posibles subsitos de unión de CbrB tipo F (TGTTAC); cajas amarillas, posibles subsitos de unión de CbrB tipo R (GTAACA); secuencias tachadas, mutaciones generadas por PCR solapante.

Para generar los mutantes simples en *PcrcY* se procedió de igual forma, y se utilizó el vector pMPO389 como molde, que contenía un fragmento de DNA con el promotor de *crcY* de 295 pb, amplificado con los oligos *crcYSmaI/crcYBamHI* y clonado *SmaI/BamHI* en pUC18Sfi, abarcando las coordenadas -273 a +6. La PCR solapante se realizó de la siguiente manera: el fragmento izquierdo se amplificó con los oligonucleótidos *crcYSmaI/ Ymut1R* para pMPO439 y *FusioncrcYF* junto con *Ymut2R*, *Ymut3R* y *Ymut4R* para pMPO440, pMPO441 y pMPO442. La región derecha se amplificó

con el oligonucleótido FusioncrcYRbisBam y con Ymut1F, Ymut2F, Ymut3F y Ymut4F, respectivamente.

Para generar los mutantes dobles y triples en *PcrcY* (pMPO443, pMPO444, pMPO445 y pMPO446), se usó como molde los vectores pMPO440, pMPO440, pMPO441 y pMPO443 que ya incluían alguna mutación y se amplificó el fragmento izquierdo con FusioncrcYF y Ymut3R, Ymut4R, Ymut5R y Ymut5R y el fragmento derecho con FusioncrcYRbisBam y Ymut3F, Ymut4F, Ymut5F y Ymut5F. El fragmento de PCR solapante para los mutantes en *PcrcY* se amplificó con los oligos FusioncrcYF y FusioncrcYRbisBam y fue de 210 pb (coordenadas desde -195 a +1) y se clonó igualmente EcoRI/BamHI en el vector pMPO234. En la figura 31 se muestran de forma esquematizada los fragmentos de la región promotora de *crcY* que contiene cada vector.

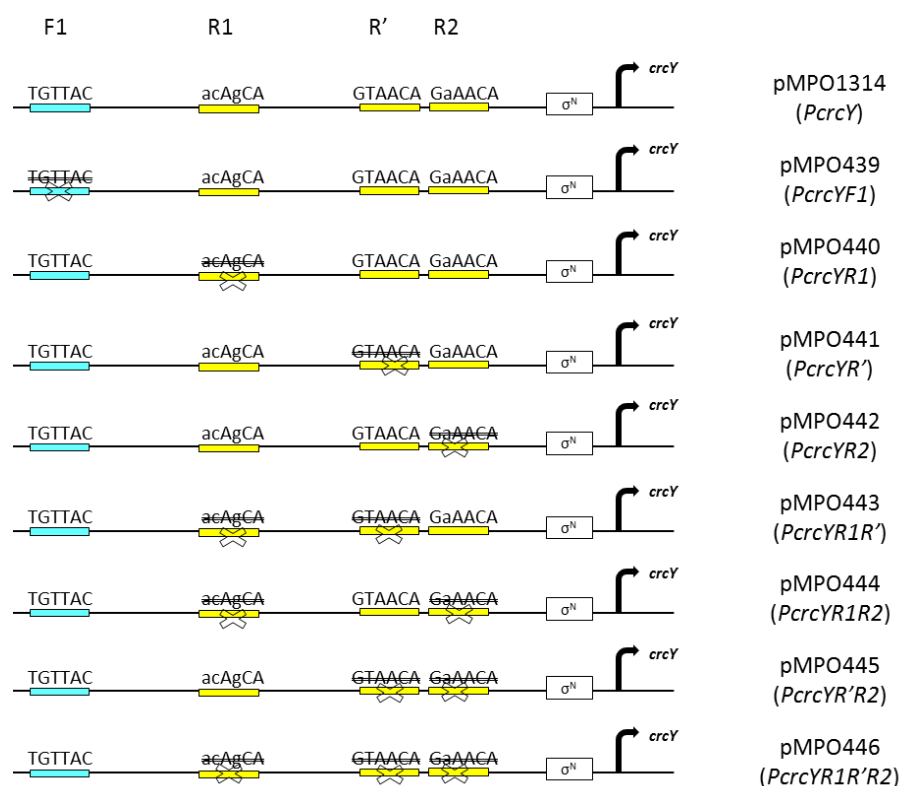


Figura 31. Esquema de la construcción de fusiones transcripcionales a *lacZ* con mutaciones puntuales del promotor de *crcY*. Flechas, inicio de la transcripción de *crcZ*; cajas blancas, posible promotor σ^N ; cajas azules, posibles subsitos de unión de CbrB tipo F (TGTTAC); cajas amarillas, posibles subsitos de unión de CbrB tipo R (GTAACA); secuencias tachadas, mutaciones generadas por PCR solapante.

Se ensayó la actividad β -galactosidasa de todas estas construcciones en *P. putida* KT2442 (silvestre) cultivada en un medio mínimo con succinato. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 32.

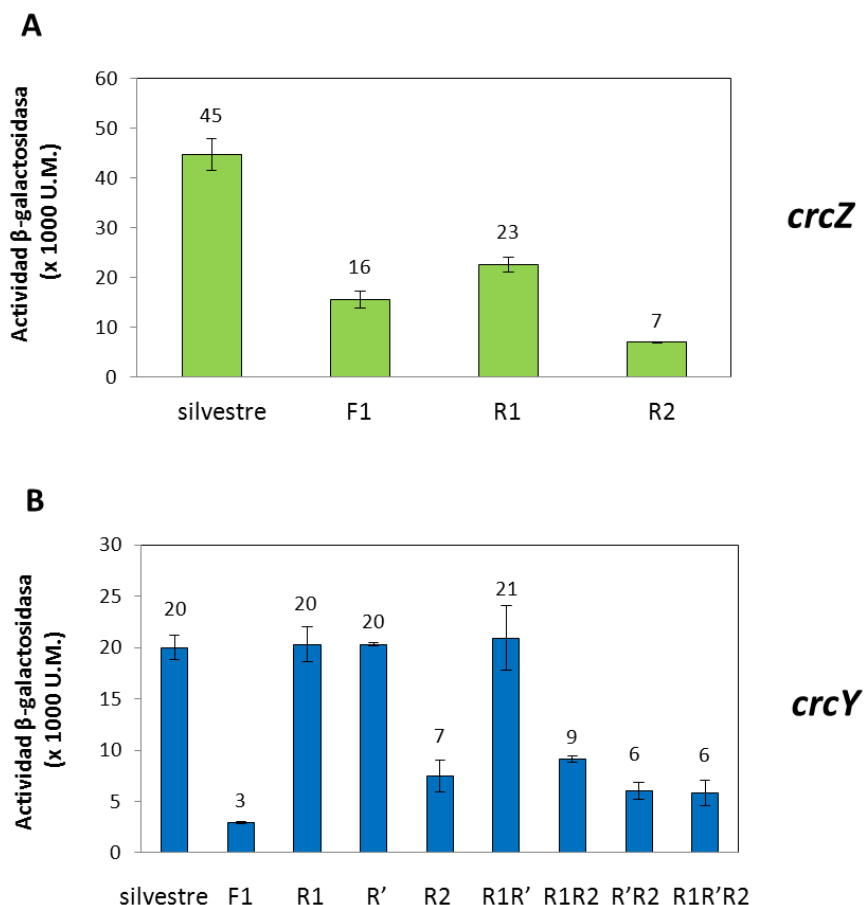


Figura 32. Medida de la expresión *in vivo* de las fusiones transcripcionales *crcZ::lacZ* y *crcY::lacZ* silvestre y mutantes en los posibles subsitios de unión de CbrB. Expresión medida como actividad β -galactosidasa de los plásmidos pMPO1316 (silvestre), pMPO436 (F1), pMPO437 (R1) y pMPO438 (R2) *crcZ::lacZ* (A, barras verdes) y de los plásmidos pMPO1314 (silvestre), pMPO439 (F1), pMPO440 (R1), pMPO441 (R'), pMPO442 (R2), pMPO443 (R1R'), pMPO444 (R1R2), pMPO445 (R'R2) y pMPO446 (R1R'R2) *crcY::lacZ* (B, barras azules) introducidos en la estirpe silvestre creciendo en succinato. Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

Los ensayos de actividad β -galactosidasa revelaron que la expresión del promotor de *crcZ* de los plásmidos pMPO436, pMPO437 y pMPO438, en los que se habían mutado

cada uno de los tres subsitios F1, R1 y R2, era de un 35%, 51% y 16% respecto a la fusión silvestre pMPO1316. Estos resultados indicaron que una mutación en cualquiera de los subsitios de *PcrcZ* era suficiente para afectar considerablemente la activación de este promotor. En el caso del promotor de *crcY*, las mutaciones simples en F1, R1, R' y R2 (plásmidos pMPO439, pMPO440, pMPO441, pMPO442, respectivamente) mostraron una actividad β -galactosidasa de un 15%, 102%, 102% y 37% respecto a la fusión silvestre pMPO1314. Estos resultados indicaron que una mutación en el subsitio F1 (TGTTAC) o en R2 (GaAACA) era suficiente como para afectar la activación del promotor de *crcY*, mientras que la sustitución de R1 (acAgCA) o R' (GTAACA) no parecía tener ningún efecto en la activación transcripcional, a pesar de la alta conservación en secuencia del sitio R'. Sin embargo, para investigar si los subsitios centrales R1 y R' podían estar supliéndose o actuando de forma conjunta con otros subsitios, se realizaron mutaciones dobles y triple para conocer su efecto (R1+R', R1+R2, R'+R2 y R1+R'+R2). Se generaron estas combinaciones en los plásmidos pMPO443, pMPO444, pMPO445 y pMPO446, respectivamente, y se analizó su actividad β -galactosidasa. Los resultados mostraron una actividad de un 105% (R1+R'), 46% (R1+R2), 30% (R'+R2) y 29% (R1+R'+R2), lo que confirma que el papel de los subsitios R1 y R' en la activación de *crcY* es irrelevante. En todo caso, el subsitio R' podría estar contribuyendo muy sutilmente, dado que la actividad del plásmido pMPO442 (R2) comparada con la del pMPO445 (R'+ R2) se reduce de un 37 a un 30 %, lo cual no es un efecto significativo.

Para profundizar en el mecanismo de activación de los RNAs pequeños por CbrB, se estudió su unión a fragmentos de DNA que contenían las secuencias promotoras con los posibles subsitios de unión de CbrB mutados. Para ello, se generaron fragmentos con distintas combinaciones de oligonucleótidos complementarios de 72 nt que contenían la región con los subsitios de unión de CbrB (coordenadas -161 a -90 para *PcrcZ* y -162 a -91 para *PcrcY*). Estos oligonucleótidos (*crcZ*72fwd/ *crcZ*72rev, *crcZ*72mut1fwd/ *crcZ*72mut1rev, *crcZ*72mut2fwd/ *crcZ*72mut2rev, *crcZ*72mut3fwd/ *crcZ*72mut3rev, *crcY*72fwd/ *crcY*72rev, *crcY*72mut1fwd/ *crcY*72mut1rev, *crcY*72mut2fwd/ *crcY*72mut2rev, *crcY*72mut3fwd/ *crcY*72mut3rev, *crcY*72mut4fwd/ *crcY*72mut4rev) contenían la secuencia contenida en los plásmidos pMPO1316, pMPO436, pMPO437, pMPO438, pMPO439, pMPO440, pMPO441 y pMPO442, respectivamente, y una serie de dos timinas (TT) que permitía su marcaje con dATP radiactivo. Los oligonucleótidos se asociaron tras hervirlos durante 5 minutos, dejando a continuación que se atemperaran de forma paulatina en un

baño de agua apagado, y a continuación se procedió a su marcaje con Klenow. El análisis de los EMSAs mostró unos complejos DNA-proteína muy difusos y de difícil cuantificación, quizás por tratarse de sondas de un tamaño reducido (Figura 33). La afinidad en la unión de CbrB cuando se emplearon fragmentos que contenían mutaciones en los subsitios F1, R1 y R2 en el promotor de *crcZ* se vio afectada considerablemente, y solamente se detectó la formación de un complejo DNA-CbrB para la mutación del sitio R2 (GTAACg) a las concentraciones más altas de proteína. En cuanto al promotor de *crcY*, el cambio de movilidad mas evidente se detectó para la mutación en el subsitio F1 mientras que los fragmentos de DNA con las mutaciones en R1, R' y R2 no vieron modificada su movilidad, por lo que no se detectó alteración en la unión de CbrB.

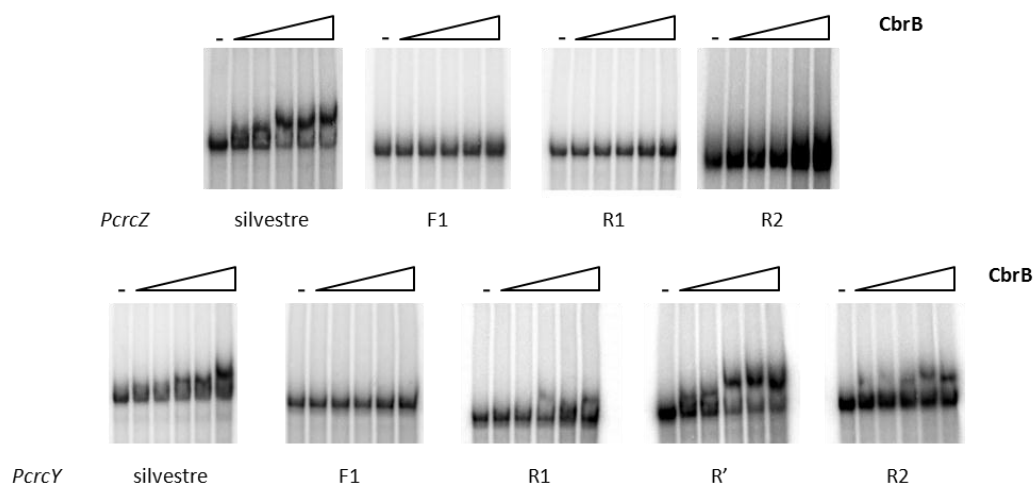


Figura 33. EMSA de la unión de CbrB a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* con los subsitios mutados. La sonda de DNA de 72 pb contiene las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* de los plásmidos de los plásmidos pMPO1316 (silvestre), pMPO436 (F1), pMPO437 (R1) y pMPO438 (R2) para *crcZ* y de los plásmidos pMPO1314 (silvestre), pMPO439 (F1), pMPO440 (R1), pMPO441 (R'), pMPO442 (R2) para *crcY*, obtenida por anillamiento de dos oligonucleótidos complementarios que incluyen cada mutación. Las concentraciones de CbrB fueron 0, 0,75, 1, 1,25, 1,5 y 2 μ M (con un ratio molar DNA: dímero de CbrB de 1:250, 1:333, 1:417, 1:500 y 1:667 respectivamente).

Estos datos en los que se ve afectada la unión de CbrB en función de las mutaciones en los subsitios F1, R1, R' y R2, correlacionan con los resultados de activación de la transcripción de *crcZ* y *crcY* cuantificado mediante actividad b-galactosidasa (Figura 32).

4.1.6. Estudio del papel de IHF en la activación de *crcZ* y *crcY* *in vivo* y de su capacidad de unión a las regiones promotoras de los RNAs pequeños

El análisis de la secuencia promotora de *crcZ* y *crcY* reveló la existencia de regiones ricas en A+T aguas arriba y en las proximidades de la secuencia promotora σ^N , GG-N₁₀-GC, que podían representar sitios de unión de la proteína IHF (Figura del apartado 4.1.1). La participación de IHF en la activación transcripcional ha sido descrita en muchos promotores dependientes de σ^N , que tienen un sitio de unión de IHF justo aguas arriba de la secuencia GG-N₁₀-GC, incluido *crcZ* en *P. aeruginosa* (Abdou et al., 2011). El requerimiento *in vivo* de IHF para una correcta activación por CbrB se estudió midiendo la actividad β -galactosidasa usando las fusiones transcripcionales *crcZ::lacZ* y *crcY::lacZ* de los plásmidos pMPO1316 y pMPO1314, respectivamente, descritas en el apartado 4.1.2, en las estirpes silvestres KT2442, KT2440 y en la estirpe mutante derivada de KT2440 Δihf en medio rico LB.

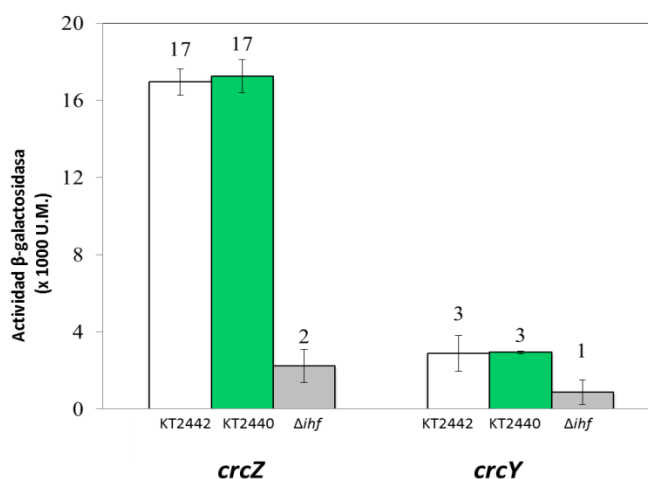


Figura 34. Análisis del efecto de IHF en la activación transcripcional *in vivo* de *crcZ* y *crcY*. Expresión de una fusión transcripcional *P_{crcZ}::lacZ* (izquierda) y *P_{crcY}::lacZ* (derecha) de los plásmidos pMPO1316 y pMPO1314, respectivamente, en las estirpes KT2442 (barras blancas), KT2440 (barras verdes) y KT2440: Δihf (barras grises) en LB. Los experimentos se realizaron por triplicado; se muestra el valor medio y las desviaciones estándar.

Los resultados de este análisis mostraron que la ausencia de IHF *in vivo* tenía como consecuencia una reducción en la transcripción desde los promotores de *crcZ* y

crcY de unas 7,7 y 3,4 veces, respectivamente, (Figura 34) lo cual indica una clara implicación de IHF en la activación transcripcional de *crcZ* y *crcY* en *P. putida*. Se observó el mismo efecto en la activación de *crcZ* y *crcY* cuando ambas estirpes crecieron en un medio mínimo con succinato como fuente de carbono (no se muestra).

Para determinar si el efecto sobre la expresión de *crcZ* y *crcY* lo ejercía IHF mediante unión directa, se realizaron ensayos de unión *in vitro* con una preparación de IHF purificada de *E. coli* y dos fragmentos de DNA que contenían los promotores de *crcZ* y *crcY*. Con este fin, se construyeron los plásmidos pMPO397 (*P_{crcZ}*) y pMPO398 (*P_{crcY}*) por amplificación por PCR a partir de DNA genómico usando el par de oligonucleótidos *crcZX*ballIHF/ *crcZ*SmallIHF (coordinadas -145 a +117) y *crcYX*ballIHF/ *crcY*SmallIHF (coordinadas -137 a +114), respectivamente. Ambos fragmentos de 280 y 269 pb se digieron XbaI/SmaI y se clonaron en el vector pUC18Sfi digerido con estas mismas enzimas.

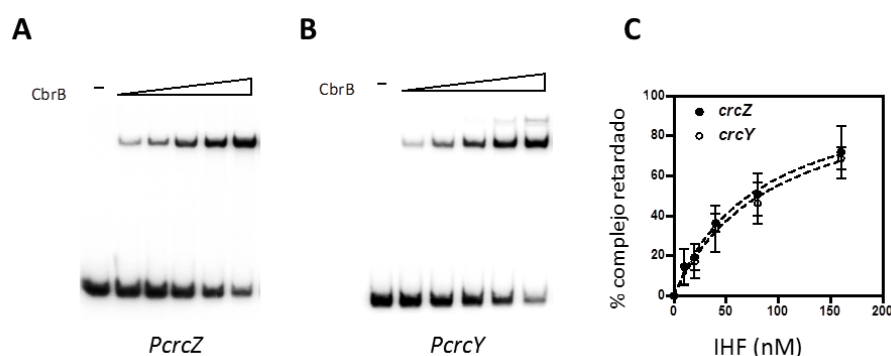


Figura 35. EMSA de IHF a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY*. A y B) gel representativo del retardo de un fragmento lineal conteniendo la región promotora de *crcZ* y *crcY*, respectivamente. Las concentraciones de IHF fueron 0, 10, 20, 40, 80 y 160 nM (un ratio molar DNA/ IHF de 1:3, 1:7, 1: 13, 1:27 y 1:53 respectivamente). C) las curvas muestran el ajuste a una hipérbola rectangular para cada dato de cuantificación de porcentaje de complejo retardado. Los valores y las barras de error muestran las medias y las desviaciones estándar de al menos tres experimentos independientes.

Los ensayos de retardo en gel con IHF y las sondas de DNA amplificadas por PCR desde los plásmidos donde habían sido clonadas (pMPO397 y pMPO398) revelaron la presencia de un complejo retardado bien definido que reflejaba una alta afinidad. Las constantes aparentes de disociación (K_{app}) de IHF a estos fragmentos se estimaron en 82

± 12 nM para *PcrcZ* y 93 ± 20 nM para *PcrcY* siguiendo la metodología descrita en (Porrúa et al., 2010) (Figura 35).

Para caracterizar en detalle la interacción de IHF con *PcrcZ* y *PcrcY*, se realizó un análisis de *footprint* usando fragmentos generados por PCR a partir de los plásmidos pMPO397 y pMPO398. Se emplearon los mismos oligonucleótidos con los que fueron clonadas. Para las reacciones de secuenciación utilizadas como marcador de tamaño se utilizaron los plásmidos pMPO397 y pMPO398 como molde y los oligonucleótidos footcrzIHF /footcrYIHF respectivamente, para las cadenas negativas. Los datos de protección frente a la digestión por DNase mostraron una región protegida continua desde las coordenadas -34 a -71 para *PcrcZ* y de -35 a -62 para *PcrcY* (Figura 36). En conjunto, todos estos datos muestran que IHF se une a ambas regiones promotoras en unas posiciones similares a las que habían sido descritas para otros promotores dependientes de σ^N .

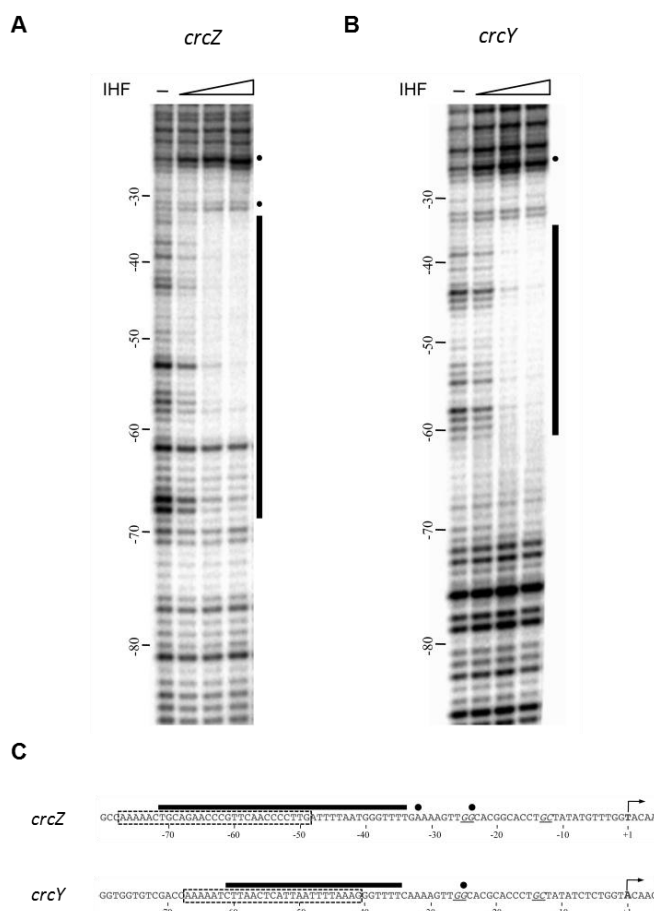


Figura 36. Ensayo de protección a la digestión con DNasa I de las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* de *P. putida* con IHF. A y B) Patrón de *footprint* de la cadena negativa de *PcrcZ* (A) y *PcrcY* (B) a concentraciones de CbrB de 0, 31,2, 125 y 500 nM (con una relación molar DNA:IHF de 1:10, 1:42 y 1:167, respectivamente). Las barras negras señalan las zonas protegidas y los puntos indican las posiciones hipersensibles. Se muestran las coordenadas respecto al inicio de la transcripción de *crcZ* y *crcY*. C) Esquema de las regiones protegidas e hipersensibilidades en la secuencia de la región promotora de *crcZ* y *crcY*, con las mismas indicaciones que en el patrón de footprint. Las cajas abiertas señalan la posición de los posibles sitios de unión de IHF (regiones ricas en AT).

4.1.7. Mecanismo de activación de *crcZ* y *crcY*.

4.1.7.1. Elementos necesarios para la activación *in vitro* de *crcZ* y *crcY*.

Para definir los elementos necesarios para la formación del complejo abierto en los promotores de *crcZ* y *crcY*, se realizaron ensayos de transcripción *in vitro* (IVT). Para ello, se utilizaron como molde los plásmidos superenrollados pMPO395 y pMPO396, que contenían las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* clonadas en el vector pTE103. Estos plásmidos se generaron por amplificación por PCR de DNA genómico con la pareja de oligonucleótidos FuscrcZFEco/ ZbisBam para *PcrcZ* y *crcYSmal/crcYBamHI* para *PcrcY*, y se clonaron en el vector de IVT pTE103 digerido EcoRI/BamHI para *PcrcZ* y Smal/BamHI para *PcrcY*. Las regiones promotoras comprendían los fragmentos con coordenadas desde -212 a +30 para *crcZ* y de -273 a +7 para *crcY*.

Para la reacción de IVT se añadió la proteína IHF purificada de *E. coli*, el núcleo de la RNA polimerasa de *E. coli*, el factor σ^N de *P. putida*, la proteína CbrB-His₆ y el molde de DNA en presencia de NTPs. A continuación se cuantificaron las cantidades totales de transcritos de *crcZ* y *crcY*. Como se muestra en la figura 37, CbrB resultó ser imprescindible para la formación de complejo abierto, y además la cantidad de transcritos aumentó con la concentración de la proteína (paneles A, B y C). Dado que las proteínas reguladoras en los sistemas de dos componentes son normalmente activas en su forma fosforilada, se analizó el papel de la fosforilación de CbrB, no solo en cuanto a su capacidad de unirse a sus promotores diana (analizado en el apartado 4.1.5), sino también en la capacidad para activar la transcripción de dichos genes. Por ello se llevaron a cabo ensayos de transcripción *in vitro* con la proteína CbrB en presencia y ausencia de acetil fosfato, que fosforila el residuo de aspártico en la posición 52 de CbrB.

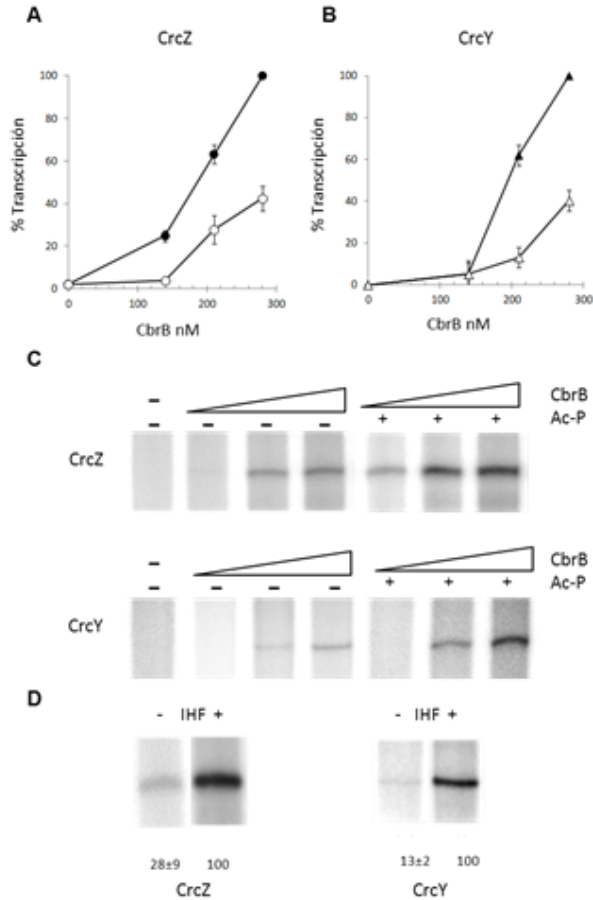


Figura 37. Transcripción *in vitro* de *crcZ* y *crcY*. **A y B)** se representa el valor medio de los niveles de transcripción de tres experimentos diferentes frente a la concentración de CbrB. Los valores obtenidos a la máxima concentración de CbrB (280 nM) se establecieron como el 100% y los niveles de transcrito se expresan respecto a este valor. Los símbolos rellenos representan CbrB-P y los símbolos abiertos la proteína no fosforilada, para *CrcZ* (A) y *CrcY* (B). Las barras de error representan la desviación estándar. **C)** Datos primarios de una muestra representativa de la transcripción *in vitro* mediada por CbrB mostrada en (A) y (B). Los moldes de DNA superenrollados (plásmidos pMPO395 (*PcrcZ*) y pMPO396 (*PcrcY*)) se incubaron en la presencia de σ^N de *P. putida*, 75 nM de IHF de *E. coli* y el core de la RNA polimerasa en presencia o ausencia de acetil fosfato. Las concentraciones de CbrB usadas fueron 0, 140, 210 y 280 nM (un ratio DNA: dímero de CbrB de 1:47, 1:70 y 1:93, respectivamente, y un ratio DNA-IHF de 1:25). **D)** Transcripción *in vitro* usando 280 nM de CbrB-P en la ausencia (izquierda) y presencia (derecha) de IHF 75 nM.

Como se muestra en figura 37 C, la forma fosforilada de CbrB (CbrB-P) era capaz de activar la transcripción de *crcZ* (Figura 37, arriba) y *crcY* (Figura 37, abajo), de una

forma mas eficiente que la forma no fosforilada. Sin embargo, y de forma sorprendente, se observó que la forma no fosforilada de CbrB era también capaz de activar la transcripción de *crcZ* y *crcY* con una eficiencia de hasta un 40 % para ambos promotores, a una concentración de CbrB de 280 nM (Figura 37, A y B). La diferencia de transcripción *in vitro* entre CbrB-P y su forma no fosforilada no puede atribuirse a una diferencia en la afinidad de unión CbrB-DNA dado que en los ensayos de retardo en gel con CbrB-P no se detectó un incremento en la afinidad de unión al DNA (Figura 27).

Por otra parte, la presencia de IHF en las reacciones de transcripción *in vitro* contribuyó considerablemente en la activación a diferentes concentraciones de CbrB, ya que se apreció un aumento de 3,5 veces para *crcZ* y cerca de 8 veces para *crcY* al usar la máxima concentración de CbrB en los ensayos de IVT (280 nM) al añadir IHF 75 nM (Figura 37, D). Estos datos otorgan a IHF un papel importante como un co-activador directo de ambos promotores.

4.1.7.2. Papel de la fosforilación de CbrB en la activación *in vivo* de los pequeños RNAs

En los ensayos de transcripción *in vitro* se detectó cierta activación mediada por CbrB en condiciones en las que la proteína no se encontraba fosforilada, llegando a alcanzar hasta un 40% de la transcripción respecto a cuando sí lo estaba, a concentraciones altas de CbrB (Figura 37, A y B). Sin embargo, aunque es de esperar que no se alcancen niveles tan altos de CbrB en condiciones fisiológicas, parecía conveniente realizar un estudio de la capacidad de CbrB de activar la transcripción de los RNAs pequeños *in vivo*, controlando la tasa de fosforilación de la proteína. Para ello, se realizaron medidas de expresión de *crcZ* mediante RT-qPCR, suministrando CbrB en alta dosis *in trans*, en las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrA$ (MPO413). En el fondo $\Delta cbrA$, CbrB no se encuentra fosforilado ya que no está presente la proteína histidina quinasa que lo fosforila *in vivo*.

Para la superproducción de CbrB, se clonó la secuencia de *cbrB* bajo un promotor fuerte como *Ptac* y la secuencia SD de T7, para garantizar altos niveles de transcripción y de traducción. Se generó así el plásmido pMPO385, que contenía la SD del bacteriófago T7 generado por reasociación de oligonucleótidos (SDT7fwd y SDT7rev), flanqueados por las dianas EcoRI/NdeI, el vector pIZ1016 digerido EcoRI/SmaI, y la secuencia codificante

de *cbrB* obtenida por digestión NdeI/BamHI como del vector pMPO1229. La superproducción de CbrB a partir del plásmido pMPO385 se comprobó resolviendo el extracto con las proteínas totales para cada estirpe y condición en un gel de acrilamida al 10%, y se visualizaron mediante su tinción con azul de Coomassie (Figura 38A). A la altura correspondiente a CbrB (55 KDa), se identificó una banda del tamaño esperado en las estirpes transformadas con el plásmido de superproducción pMPO385, e inducidas con IPTG. Para certificar que esta proteína superproducida se trataba de CbrB, se realizó un ensayo Western Blot con estas mismas muestras cargadas en un gel de acrilamida en paralelo y el anticuerpo anti-CbrB identificó estas dos bandas como CbrB (Figura 38B).

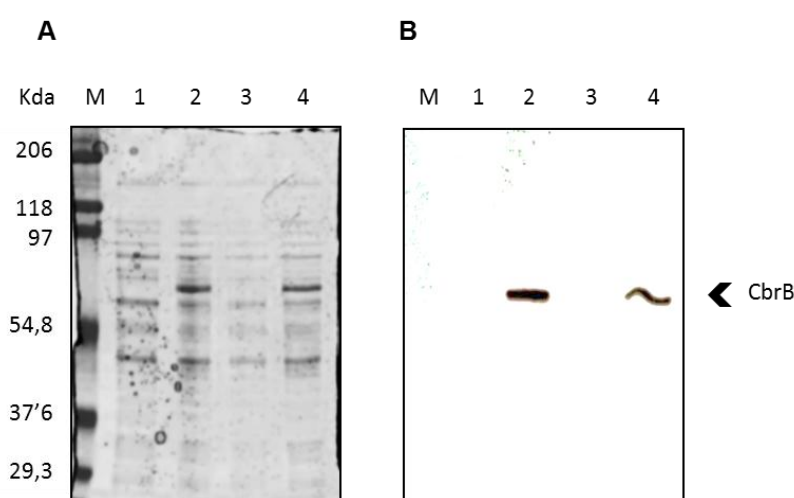


Figura 38. Superproducción de CbrB en *P. putida* con el plásmido pMPO385. A) gel de acrilamida teñido con azul de Coomassie que muestra las proteínas totales de los cultivos crecidos en medio mínimo con succinato, rifampicina, gentamicina e IPTG 0.5 mM. **B)** Western Blot de las muestras con anti-CbrB. M: marcador de peso molecular, 1:KT2442/pIZ1016, 2: KT2442/pMPO385, 3: $\Delta cbrA$ /pIZ1016, 4: $\Delta cbrA$ /pMPO385

Los vectores pMPO385 y el vector vacío pIZ1016 se introdujeron por conjugación en las estirpes silvestre y mutante MPO413 ($\Delta cbrA$) y se cultivaron en un medio mínimo con succinato, rifampicina, gentamicina (selección del plásmido) e IPTG 0,5 mM (superproducción de CbrB desde el promotor *P_{tac}*) desde una A_{600} inicial de 0,05 hasta que alcanzaron la fase exponencial media ($A_{600} = 0,3$). A continuación se extrajo el RNA total de las muestras y se retrotranscribió para cuantificar los niveles de *crcZ* en cada condición, como se detalla en materiales y métodos.

Los niveles de *crcZ* se cuantificaron mediante análisis por RT-qPCR amplificando con los oligonucleótidos *crcZ*49-1Q/ *crcZ*99-2Q que hibridan en la región codificante de *crcZ*. Los resultados obtenidos mostraron que los niveles de expresión de *crcZ* en la estirpe silvestre, en la que la proteína CbrB endógena se encuentra fosforilada, eran elevados en presencia tanto del plásmido vacío como en las condiciones en las que se superproducía CbrB, lo que indicaba que había un nivel máximo de activación que no se podía superar aunque se suministrase mas proteína (Figura 39, izqda). Sin embargo, en un fondo $\Delta cbrA$, en el CbrB se encuentra en su forma no fosforilada, los niveles de *crcZ* eran bajos en presencia del plásmido vacío (aunque considerables) y aumentaban 3 veces cuando se aumentaba la dosis de CbrB (Figura 39, dcha). Estos datos demostraban, acorde con los resultados obtenidos *in vitro*, que CbrB era capaz de activar la transcripción de sus dianas en su forma no fosforilada, si la dosis de la proteína era lo suficientemente alta. Hay que destacar también que se detectaron niveles considerables de *crcZ* en condiciones en las que CbrB no está fosforilado. Este dato será analizado mas adelante en la discusión.

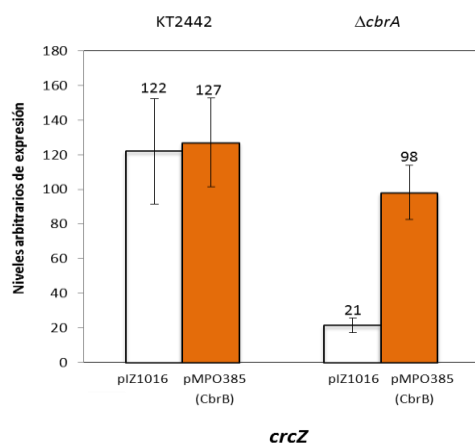


Figura 39. Estudio del efecto de la dosis de CbrB no fosforilado en la expresión de *crcZ*. Expresión de *crcZ* obtenida por RT-qPCR en las estirpes silvestre KT2442 (izquierda) y mutante MPO413 ($\Delta cbrA$) (derecha) cultivadas en un medio mínimo con succinato. Las barras blancas representan el plásmido vacío (pI21016) en estas estirpes y las naranjas el plásmido de superproducción de CbrB (pMPO385). Los valores son la media de tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

4.1.8. Estudio de otros factores que controlan la expresión de *crcZ* y *crcY*.

Hasta ahora se ha referido que la expresión de los pequeños RNAs CrcZ y CrcY está activada por CbrB. Sin embargo, se han descrito cascadas regulatorias sobreimpuestas a este nivel en la regulación de la expresión de otros sRNAs ejercidas por otros factores. Por ejemplo, en *P. fluorescens* y en *P. aeruginosa*, la expresión de los sRNA RsmZ y RsmY está activada por el TCS GacS-GacA. A su vez, los represores traduccionales RsmA (en *P. aeruginosa*) o RsmA y RsmE (en *P. fluorescens*), reconocen ciertas estructuras secundarias en los sRNA quedando inhibida su función represora, al imposibilitar que se unan a sus mRNA diana (Sonnleitner & Haas, 2011), del mismo modo que ocurre para el represor Crc en *P. putida* (Moreno *et al.*, 2007). Dado que en *P. putida* se ha descrito que la proteína Crc juega un papel similar, se analizó la implicación de Crc en la expresión de, *crcZ* y *crcY*, y también sobre *cbrB*.

4.1.8.1. Efecto de Crc en la expresión de *crcZ*, *crcY* y *cbrB*.

Datos previos de RT-qPCR cuantitativa mostraron que los niveles de transcritos de *crcZ* y *crcY* eran inferiores en un fondo *crc*⁻ con respecto al fondo silvestre en *P. putida* KT2442 en un medio rico LB (Isabel Pérez-Martínez, comunicación personal). Con objeto de explorar la posibilidad de que Crc tuviera un efecto a nivel transcripcional en la expresión de estos sRNAs, se generaron dos fusiones transcripcionales de las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* desde el nucleótido +1 al gen *lacZ* (plásmidos pMPO1316 y pMPO1314, respectivamente) y se realizaron ensayos de actividad β -galactosidasa en las estirpes silvestre y mutante KT2442-C1 (*crc*⁻) cultivadas en LB, que es el medio donde los niveles de Crc son mas elevados (Ruiz-Manzano *et al.*, 2005). Con esta aproximación, se descartaron los posibles efectos en la estabilidad del mRNA ocasionada por la unión de Crc, ya que las fusiones génicas de las regiones promotoras empleadas se les había eliminado totalmente las posibles secuencias AANAANAA descritas como motivos de unión de Crc (Moreno *et al.*, 2012). Los datos obtenidos corroboraron que la transcripción de los sRNAs eran inferiores en un mutante *crc*⁻ en comparación con la estirpe silvestre creciendo en LB (reducción de 9 y 7 veces, respectivamente; Figura 40).

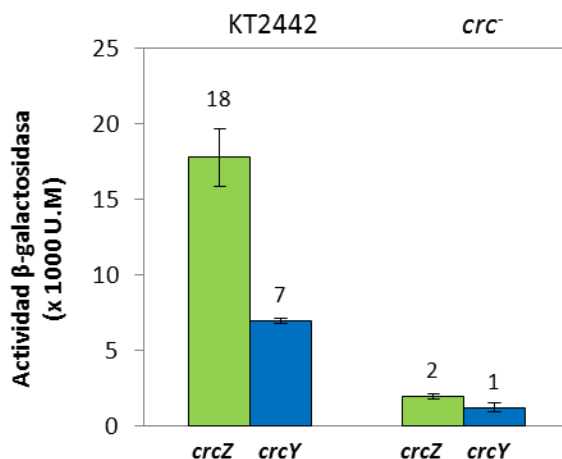


Figura 40. Efecto de Crc en la expresión de *crcZ* y *crcY*. Expresión medida como actividad β -galactosidasa de las fusiones transcripcionales *crcZ::lacZ* (pMPO1316, barras verdes) y *crcY::lacZ* (pMPO1314, barras azules) en las estirpes silvestre y mutante *crc*⁻ creciendo en LB. Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error muestran la desviación estándar de las medias.

Además, para observar el efecto de Crc sobre la totalidad de los transcritos generados, se realizó un *Northern Blot* en las estirpes silvestre y mutante *crc* creciendo en LB desde una A_{600} de 0,05 hasta la fase exponencial media (A_{600} de 0,3). Las sondas para *crcZ* y *crcY* se obtuvieron por amplificación por PCR con los oligonucleótidos *crcZ*49_1Q/Ptaq-*crcZ*_rev (345 pb) y *crcY*2Fwd/*crcY*366Rev (349 pb), respectivamente. Este análisis reveló la presencia de pequeños RNAs en la estirpe silvestre que fueron indetectables en el fondo mutante *crc* (Figura 41). Estos resultados indicaban que Crc tiene un efecto en la transcripción de *crcZ* y *crcY* y que la reducción en los niveles de transcritos no era un efecto de una posible desestabilización de los pequeños RNAs mediada por Crc.

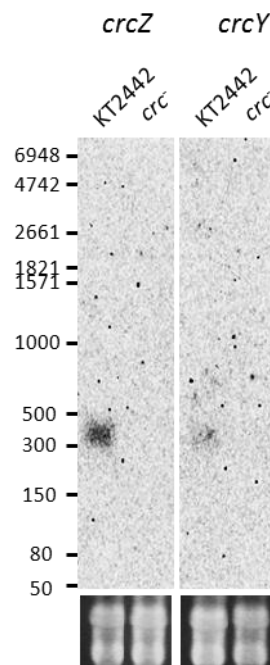


Figura 41. Niveles de transcritos de *crcZ* y *crcY* analizados por *Northern blot* en las estirpes silvestre y mutante *crc*⁻ cultivados en LB. El RNA total se tiñó con bromuro de etidio y se usó como control de carga.

Dado que Crc ha sido descrito como un represor traduccional, parecía poco probable que su implicación en la activación transcripcional de *crcZ* y *crcY* fuera consecuencia de un efecto directo. Sin embargo, para descartar otras hipótesis, se construyeron una fusión transcripcional y otra traduccional de la región promotora de *cbrB* a *lacZ* dando lugar a los plásmidos pMPO1319 y pMPO1327, respectivamente. El plásmido pMPO1319 se construyó clonando un fragmento EcoRI/romó conteniendo la región promotora de *cbrB* desde las coordenadas -493 a +17 desde el ATG del plásmido pMPO1203 en el plásmido pMPO234 digerido EcoRI/SmaI. La fusión traduccional del plásmido pMPO1327 se construyó amplificando por PCR desde DNA genómico la región promotora de *cbrB* con la pareja de oligonucleótidos FuTranslcbrBFwd/ FuTranslcbrBRev. El fragmento de 505 pb digerido EcoRI/SmaI se fusionó a *lacZ* desde el sexto codón de la pauta abierta de lectura de *cbrB* y se clonó en el vector pMPO200 digerido EcoRI/SmaI. Ambas construcciones se ensayaron en las estirpes silvestre y mutante *crc* en medio LB, y la actividad β -galactosidasa no mostró ningún efecto de la mutación en la expresión de *cbrB* para ninguno de los plásmidos (Figura 42). Los resultados mostraban que Crc no ejercía un efecto sobre la transcripción o traducción de *cbrB* y apoyaba la hipótesis de que el efecto

ejercido por Crc sobre los niveles de los pequeños RNAs *crcZ* y *crcY* era indirecto, y debía estar mediado por otro factor sin identificar.

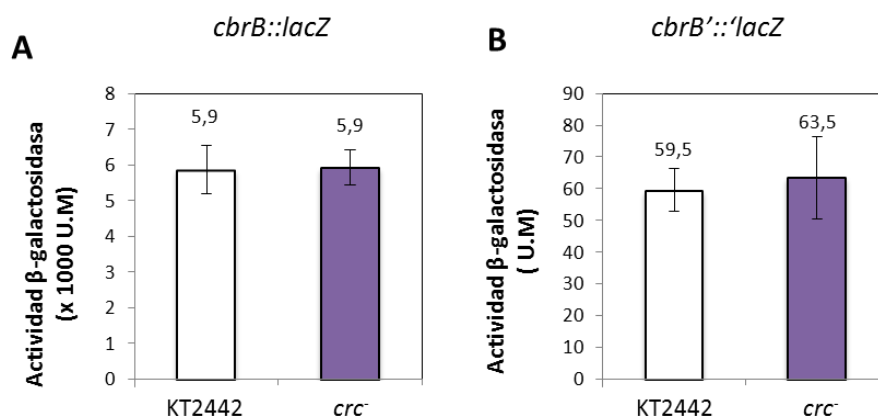


Figura 42. Efecto de Crc en la expresión de *cbrB* a nivel transcripcional y traduccional. La actividad β -galactosidasa de las fusiones transcripcionales (A) y traduccionales (B) de *cbrB::lacZ* y *cbrB'::lacZ* (pMPO1319 y pMPO1327, respectivamente) se midieron en *P. putida* KT2442 (barras blancas) y en el mutante *crc* (barras grises). Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

4.2. Capítulo 2: Identificación de genes directamente regulados por CbrB en *Pseudomonas putida*.

El análisis transcriptómico realizado previamente en nuestro laboratorio reveló un elevado número de genes y por tanto procesos celulares que podían estar regulados de forma directa o indirecta por el sistema de dos componentes CbrAB (Amador et al., 2010). Un objetivo importante de esta tesis fue el determinar si las dianas previamente caracterizadas estaban directamente reguladas por CbrB o la regulación estaba canalizada a través de otros reguladores.

Algunas metodologías tradicionales han servido para identificar eficazmente sitios de unión de factores transcripcionales y su papel en la regulación de genes específicos, pero estos experimentos son limitados en escala y resolución. La técnica de ChIP-Seq, que proviene del inglés “**CH**romatin **I**mmuno**P**recipitation and **seq**uencing”, sirve para

identificar interacciones de proteínas con el DNA en todo el genoma de un organismo de forma precisa y con un coste relativamente bajo si se compara con su alternativa principal el *ChIP on chip*, que implica la hibridación de los fragmentos inmunoprecipitados a un *microarray* genómico (Mardis, 2007, Mikkelsen *et al.*, 2007).

4.2.1. Puesta a punto de la técnica de ChIP-Seq en *Pseudomonas putida*.

La técnica ChIP-Seq se ha implementado más frecuentemente en sistemas eucarióticos y existen pocos ejemplos en la bibliografía en los que se utilice en organismos procariotas. Algunos de ellos son el estudio de las proteínas HN-S y Fis en *Escherichia coli* (Kahramanoglou *et al.*, 2011), el regulador transcripcional DosR en *Mycobacterium tuberculosis* (Lun *et al.*, 2009) o NAC en *Klebsiella pneumoniae* (Frisch & Bender, 2010).

Con el objeto de determinar las condiciones óptimas para desarrollar el análisis de ChIP-Seq en *P. putida*, se adaptó el protocolo descrito en (Schmidt *et al.*, 2009) a células procariotas. En primer lugar, y dado que los niveles de expresión de *cbrB* en *P. putida* eran muy bajos (Amador *et al.*, 2010), se procedió a la superproducción de la proteína en el plásmido pMPO385, que contenía el gen *cbrB* expresado desde el promotor *P_{tac}*, tal y como se describe en el apartado 3.6 de materiales y métodos (su construcción en el apartado 4.1.7.2), y de este modo aumentar la cantidad de CbrB unida a los genes diana en la célula, antes de la inmunoprecipitación.

Para comprobar si el anticuerpo anti-CbrB reconocía la proteína de forma eficiente, se realizó un ensayo *Western Blot* con un extracto de proteínas totales de *P. putida* que contenía el plásmido pMPO385 (P_T) previo a la inmunoprecipitación y con un extracto de proteínas tras la inmunoprecipitación con el anticuerpo (P_{IP}) (Figura 43). El resultado reveló que el anticuerpo anti-CbrB reconocía eficientemente a CbrB en el extracto de proteínas totales, aunque no era completamente específico puesto que otras bandas discretas eran también evidentes. Además se demostró que este anticuerpo era capaz de inmunoprecipitar CbrB eficientemente, lo cual validaba este método para realizar el ChIP-Seq.

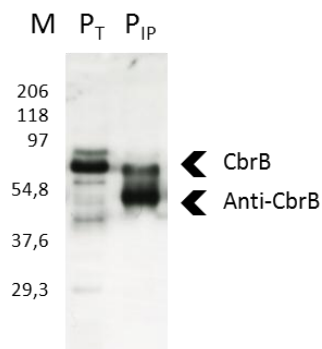


Figura 43. Identificación de CbrB mediante *western blotting*. Ensayo de *Western Blot* de un extracto de proteínas totales de *P. putida*/ pMPO385 en el cual se superproduce CbrB (P_T) y las proteínas inmunoprecipitadas (P_{IP}) por el anticuerpo anti-CbrB. M es el marcador de peso molecular de proteínas en kDa.

Un paso clave en la preparación de la muestra fue la rotura de las células y la fragmentación del DNA una vez realizado el *crosslink* DNA-proteína. Los promotores procariotas tienen un tamaño medio de entre 200-300 pb por lo que se estableció que el tamaño óptimo de los fragmentos de DNA debía estar por debajo de las 500 pb. Las células eucariotas se rompen fácilmente tras pocos ciclos de sonicación mientras que la pared celular bacteriana necesita de un método más agresivo. Tras varios intentos de rotura en un baño de sonicación o *biodisruptor* (muy eficaz para eucariotas) y diferentes protocolos con el sonicador de tubos, finalmente se consiguieron establecer las condiciones óptimas empleando un sonicador y aplicando 120 ciclos de 15 segundos al 40% con pausas de 30 segundos en hielo entre ciclos. De esta forma, se obtuvieron fragmentos de DNA de un tamaño inferior a 500 pb (Figura 44).

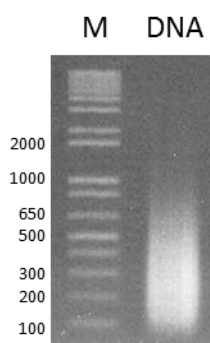


Figura 44. Fragmentación de DNA mediante sonicación. DNA fragmentado de *P. putida*/pMPO385 tras el *crosslink* DNA-proteína y sonicación visualizado en un gel de agarosa al 1,5%. M: marcador de tamaño de DNA en pb.

El DNA fragmentado se inmunoprecipitó con el anticuerpo anti-CbrB unido a las bolitas magnéticas Dynabeads (Invitrogen). Se tomaron alícuotas control al inicio y al final del proceso para cuantificar mediante RT-qPCR si se había producido un enriquecimiento del promotor de *crcZ* como control, que era la diana de CbrB conocida. La cuantificación de la muestra final de DNA inmunoprecipitado resultó ser de 0,13 ng/ μ L en un volumen final de 100 μ L, es decir, 13 ng totales, cantidad suficiente para continuar con el proceso de secuenciación. Tras la cuantificación mediante RT-qPCR de *crcZ*, usando los oligonucleótidos *crcZ*491Q/ *crcZ*992Q, se comprobó que se había conseguido un enriquecimiento de 8,5 veces en la fracción inmunoprecipitada. Como control negativo se cuantificó el gen *ntrC*, que no es diana del regulador CbrB (oligonucleótidos *ntrC*1Q/ *ntrC*2Q) mostrando un enriquecimiento de 0,7 veces (Figura 45).

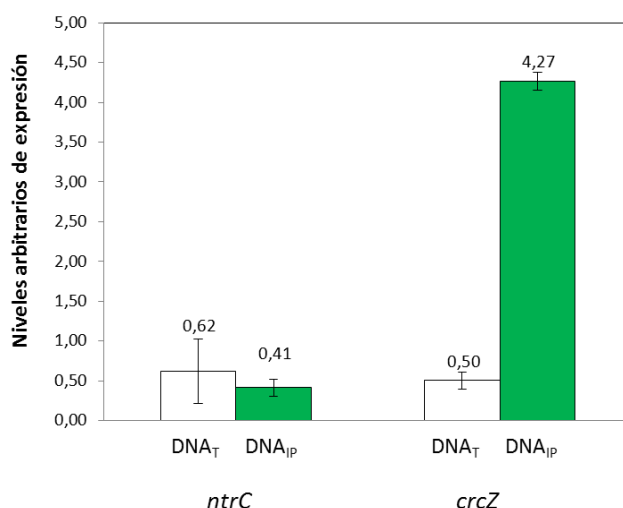


Figura 45. Cuantificación mediante RT-qPCR del enriquecimiento del DNA inmunoprecipitado en dianas reguladas por CbrB. Cuantificación mediante RT-qPCR de la expresión de *ntrC* (control negativo) y *crcZ* (control positivo) a partir de DNA total antes (barras blancas) y después de la inmunoprecipitación (barras verdes). Los valores son la media de cuatro réplicas técnicas, y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

4.2.2. Análisis de las secuencias obtenidas del ensayo de ChIP-seq: predicción de subsitios de unión de CbrB y promotores σ^N .

El DNA de *P. putida* inmunoprecipitado y fragmentado se envió a la empresa Beijing Genomics Institute (BGI), (<http://www.genomics.cn/en/index>, China), para el posterior proceso de secuenciación y análisis bioestadístico. A partir de la muestra enviada, la empresa llevó a cabo un protocolo de secuenciación masiva empleando el método de secuenciación de *Illumina*.

El análisis de la secuenciación de la muestra inmunoprecipitada del ChIP-seq de CbrB mostró que un 82,83 % de las lecturas obtenidas correspondían con el genoma de referencia *P. putida*. Del análisis estadístico resultaron 117 picos con una amplitud media de 2370 pb. La amplitud de los picos resultó ser mayor de lo esperado indicando que podía haber ruido de fondo. Los 117 picos se ordenaron según el valor tags/longitud y se generó una tabla (Anexo 1) con la información requerida para su análisis: localización (chr1, cromosoma 1), el inicio y el final del pico, su longitud, el *summit* (cima del pico, área más representada), *tags* (número de lecturas de esta región), *p-value* de esta región y las veces de enriquecimiento de la región respecto a distribución de Poisson dinámica con un lambda local. Las dianas propuestas para *crcZ* y *crcY* quedaron situadas en las picos número 2 y 46, y constituían un control positivo que validaba la aproximación experimental.

Hay que destacar que por lo general los picos contenían fragmentos independientes que no solapaban entre sí, salvo raras excepciones, como los picos 53 y 96 que abarcaban los genes PP5266-PP5269 y PP5269-PP5271 respectivamente, por tanto comprendiendo una amplia región PP5266-PP5271 susceptible de contener sitios de unión de CbrB. La diversidad de funciones y procesos regulados por los genes contenidos en los 117 fragmentos fue muy grande, y en parte, coincidía con los datos obtenidos mediante la aproximación de *microarrays* (Amador et al., 2010). A continuación se enumeran algunos ejemplos de genes englobados en el análisis del ChIP-seq pertenecientes a diferentes categorías de procesos celulares:

- **transporte de aminoácidos:** *PP4495* (amino acid ABC transporter permease), *PP3124* (short-chain fatty acid transporter family protein), *PP4433* (MFS amino acid transporter).

- **metabolismo de aminoácidos:** PP1001 (*arcA*, arginine deiminase), PP4064 (*ivd*, acyl-CoA dehydrogenase), PP5183 (glutamine synthetase).
- **transporte y metabolismo de carbono:** PP4735 (*lctP*, L-lactate transport), PP1808 (*pgi*, glucose-6-phosphate isomerase), PP4636 (acetyl-CoA acetyltransferase).
- **adhesión celular, movilidad o quimiotaxis:** PP0168 (*lapA*, surface adhesion protein), PP4904 (*motB*, flagellar motor protein), PP1819 (methyl-accepting chemotaxis sensory transducer).
- **respuesta a estrés:** PP2463 (*cspA2*, cold shock protein), PP1083 (BFD (2Fe-2S)-binding domain-containing protein), PP0535 (TonB-dependent siderophore receptor).
- **reguladores:** PP1291 (PhoH family protein), PP2542 (GntR family transcriptional regulator), PP5268 (Cro/C1 family transcriptional regulator).
- **otros:** PP2322 (*oprl*, outer membrane lipoprotein), PP0503 (major facilitator family transporter), PP0167 (toxin secretion ATP-binding protein).
- **proteínas hipotéticas:** PP4574, PP1818, PP2075.

Se realizó una búsqueda de las secuencias de unión descritas para CbrB en los 117 picos obtenidos, con una coincidencia exacta (TGTTAC y GTAACA) (Abdou et al., 2011) y con un posible espaciamiento entre ellos de hasta 200 pb (amablemente realizada por el Dr. Antonio Pérez- Pulido). Mediante este análisis se identificaron dos secuencias promotoras además de la de los genes *crcZ* y *crcY*, que correspondían a los genes PP2810 (anotado como proteína hipotética) y PP3327 (anotado como simportador de sodio/ dicarboxilatos). Además, en las regiones promotoras de dichos genes se identificaron sendas secuencias conservadas de unión del factor σ^N de la RNA polimerasa, en una disposición adecuada respecto a los posibles subsitios de unión de CbrB para ejercer una activación transcripcional. Por esta razón, se realizó un análisis en profundidad del posible control transcripcional por parte de CbrB de estos dos candidatos, junto a *crcZ* y *crcY* (Capítulos 1 y 3 de esta tesis).

Además, entre los picos obtenidos del análisis de ChIP- seq, se trataron de identificar las secuencias promotoras que contuviesen al menos una de las posibles secuencias consenso de unión de CbrB (TGTTAC o GTAACA), y que además tuviesen secuencias consenso de posibles promotores dependientes de σ^N . Se generó un documento en el que se identificaron dentro de cada uno de los 117 picos, las pautas de lectura abiertas, las posibles cajas de unión de CbrB así como promotores dependientes de σ^N con un score superior a 7 según el algoritmo descrito (Cases *et al.*, 2003b), a través de la herramienta disponible en la dirección web <http://ccbg.imppc.org/SigmaPred/GenomeMatScan/index.html> (Anexo 2). Se cuantificó cuántos picos cumplían los siguientes requisitos (Anexo 3):

- a) Contiene una secuencia de unión del factor σ^N con un score superior a 7
- b) Contiene al menos un sitio de unión de CbrB perfecto
- c) Los requerimientos a y b se encuentran localizados en una región intergénica.
- d) Los requerimientos a y b se encuentran en una orientación adecuada respecto a la pauta abierta de lectura aguas abajo.

Con este análisis se hallaron un total de 373 posibles promotores dependientes de σ^N con un score superior a 7 en los 117 picos. De éstos, 282 se localizaban en regiones codificantes y 91 en intergénicas. Únicamente 103 de ellos estaban localizados de forma coherente aguas arriba en el mismo sentido de un gen o una región intergénica amplia y eran por tanto los susceptibles a regular la expresión de un gen (anotado o no). Además se localizaron 65 secuencias de unión de CbrB en los picos (34 TGTTAC y 31 GTAACA), de las que 29 se encontraron en zonas codificantes y 36 en intergénicas. La mayoría de ellas se localizaron aguas arriba de un promotor, salvo 18 excepciones (que en principio no van a ser clasificadas como posibles promotores regulados por CbrB). Con estos datos, destacamos como candidatos a ser regulados por CbrB, los promotores σ^N aguas arriba de un gen en la misma orientación de este o aguas arriba de una región intergénica amplia que tengan a su vez al menos un sitio CbrB aguas arriba (Tabla 6):

Tabla 6. Promotores destacados del ChIP-seq por ser susceptibles de ser regulados por CbrB.

	Promotor σ^N				Subsitios de union de CbrB				
Pico #	Cadena	Codificante	Intergénica	Orientación correcta	Cantidad	pb aguas arriba de promotor	Codificante	intergénica	Gen aguas abajo
2	+		1	1	3	97-143		3	PP4696.1 <i>crcZ</i>
15	+	1		1	1	133		1	PP0036 LysR transcriptional regulator
26	-		1	1	1	1271	1		PP2502 LysR family transcriptional regulator
33	+		1	1	1	340		1	PP1809 hypothetical protein
33	+		1	1	1	384		1	intergénica aguas abajo de PP1809
41	-		1	1	1	61		1	PP2381 hypothetical protein
46	+		1	1	2	82-117		2	PP3540.1 <i>crcY</i>
47	-		1	1	1	286		1	PP2940 hypothetical protein
51	-		1	1	1	399		1	PP2541 transcriptional factor-like protein
57	-	1		1	1	326	1		PP3656 aromatic compound specific porine
58	+	1		1	1	110	1		PP1806 KpsF/GutQ family protein
65	+		1	1	1	51		1	PP1629 RecA (recombinase A)
65	+	1		1	1	463	1		PP1630 RecX (recombination regulator)
66	-		1	1	1	coincide con la secuencia σ^N		1	PP0636 cold shock DNA-binding domain-containing protein
72	-	1		1	1	67	1		PP1890 pili assembly chaperone
86	+	1		1	1	675	1		PP3619 hypothetical protein
92	+	1		1	2	coincide con la secuencia σ^N -41	2		intergénica aguas abajo de PP3328
104	+		1	1	2	105-273		2	PP2810 hypothetical protein

Según el mecanismo de activación de reguladores transcripcionales dependientes del factor σ^N , los genes que resultaban de mayor interés eran los que contenían posibles subsitios de unión de CbrB en regiones intergénicas a una distancia de menos de 350 pb del promotor σ^N . Dentro de este grupo se encontraban los siguientes: PP4696.1 (*crcZ*), PP1809 (hypothetical protein), PP2381 (hypothetical protein), PP3540.1 (*crcY*), PP2940 (hypothetical protein), PP1629 RecA (recombinase A), PP0636 (cold shock DNA-binding domain-containing protein), intergénica aguas abajo de PP3328 y PP2810 (hypothetical protein). Los genes en los que se solapa el sitio de unión de CbrB con el promotor σ^N no

son compatibles con el mecanismo de activación clásico de los promotores dependientes de σ^N , pero serán tenidos en cuenta con esta premisa.

4.2.3. Búsqueda de secuencias consenso de unión de CbrB.

Una vez identificados los fragmentos de DNA que CbrB parecía ser capaz de unir, mediante el ChIP Seq, se procedió a buscar en las bases de datos posibles motivos conservados en ellos. Existe una gran lista de herramientas informáticas y bases de datos disponibles para la búsqueda de motivos de factores transcripcionales (TF) conocidos en organismos eucariotas, como por ejemplo Genomatix, JASPAR y RSAT, pero la información disponible para organismos procariotas y las herramientas de análisis adaptadas a sus genomas están aún poco desarrolladas. Se empleó la página web MEME Suite (Bailey *et al.*, 2009), (<http://meme.sdsc.edu>) que incluye las bases de datos de procariotas Prodic Release 8.9 y RegTransBase v4. En la Figura 46 se muestran las diferentes aplicaciones disponibles en esta web y su finalidad.

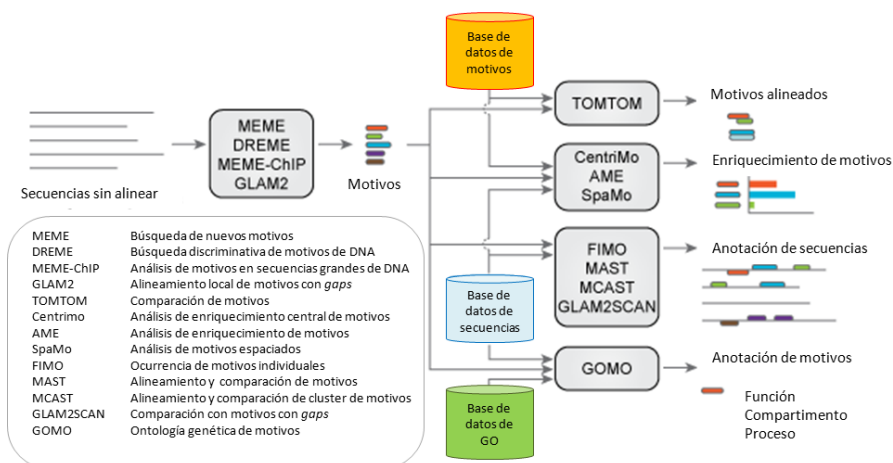


Figura 46. Herramientas informáticas que se encuentran disponibles en MEME Suite y su principal función. Algunas de sus aplicaciones son la búsqueda de nuevos motivos mediante MEME, DREME, MEME-ChIP o GLAM2; hacer una comparación de motivos con diferentes bases de datos mediante TOMTOM, MAST, FIMO, MCAST o GLAM2SCAN; asociar motivos con su ontología génica (GO) con GOMO y analizar el enriquecimiento de motivos con SpaMo or CentriMo. Modificada de <http://meme.nbcr.net/meme/>.

Las secuencias de los 117 picos obtenidas en el ChIP-seq se introdujeron en un archivo en formato *fasta* y se sometieron a un análisis mediante las diferentes herramientas de MEME Suite. Algunas de las aplicaciones solo permiten un *input* de

60.000 caracteres por lo que además se creó otro documento *fasta100* que incluía únicamente las 100 pb que rodeaban al *Summit* para cada pico (Anexo 4).

- a) Búsqueda de secuencias consenso con MEME: analiza las secuencias buscando similitudes entre ellas y produce un motivo para cada patrón que encuentra. Se analizó el documento *fasta100* buscando una ocurrencia de motivos de cero a uno por secuencia, pudiendo ser éstos de entre 6 a 50 nucleótidos (muy poco restrictivo). Los *logos* generados a partir de las matrices de probabilidad de los motivos encontrados se muestran en la figura 47.

Se obtuvieron tres motivos distintos que comprendían secuencias localizadas en 18 picos para el motivo 1, 10 sitios para el motivo 2 y 4 picos para el motivo 3. Únicamente el motivo 3 presentó uno de los subsitios predichos para CbrB.

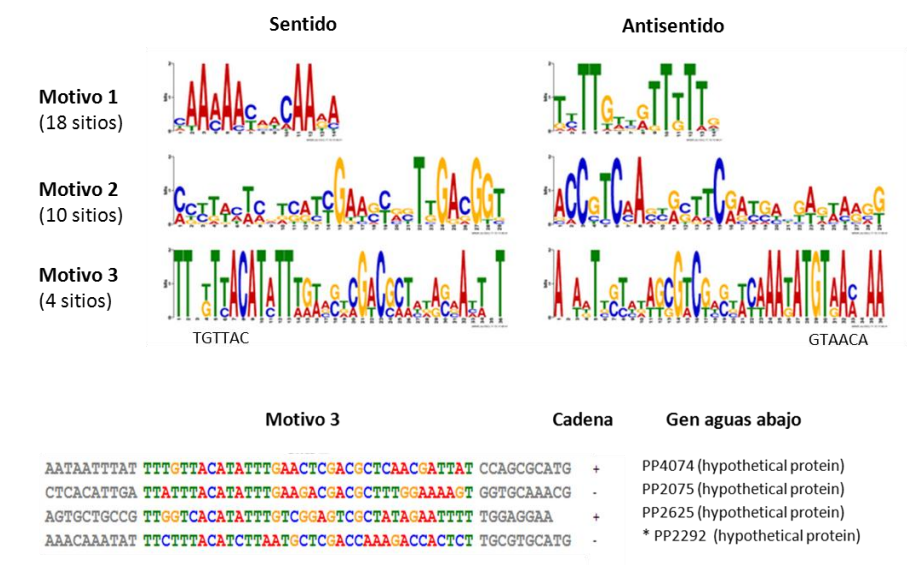


Figura 47. Motivos hallados en el documento *fasta100* mediante MEME. Arriba, se muestran los logos generados a partir una matriz de probabilidad donde el tamaño de la letra correlaciona con la ocurrencia de ese nucleótido. Se muestran las dos posibilidades de orientación de los motivos (sentido y antisentido) y el número de sitios del ChIP-seq (18, 10 y 4) que contienen los motivos 1, 2 y 3, respectivamente. Se indica la zona del motivo 3 que coincide con uno de los subsitios de unión de CbrB (TGTTAC o GTAACA). Abajo, secuencias del ChIP-seq que contienen el motivo 3, la cadena en la que se encuentra (+, sentido, -, antisentido) y el gen que se encuentra aguas abajo. El * indica que el motivo se encontraba en la región codificante de ese gen.

b) Búsqueda de secuencias consenso con MEME-ChIP: Esta herramienta permite la búsqueda de motivos en grandes compilaciones (hasta 50 MB) de secuencias de DNA (de unas 500 pb) resultado de experimentos de ChIP-seq y además hacer una comparación con la información contenida en las bases de datos. Se analizó el documento *fasta* contra las dos bases de datos disponibles para procariotas con los mismos requerimientos que se usaron con MEME (Figura 48). Con este análisis se generó el motivo 4 (representado en 43 sitios) y el motivo 5 (representado en 19 sitios). Únicamente el motivo 5 presentó uno de los subsitios predichos para CbrB.

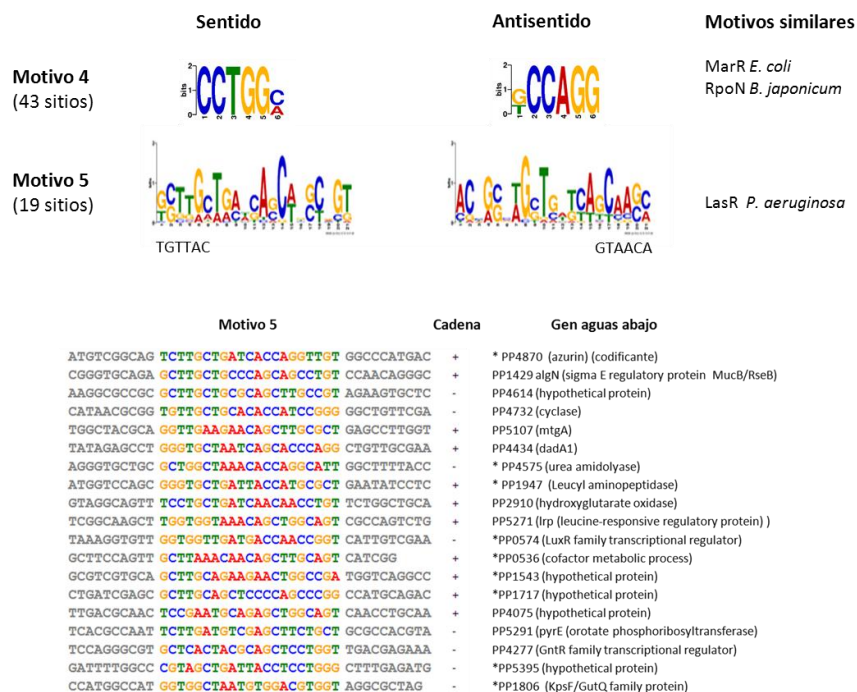


Figura 48. Motivos hallados en el documento *fasta* mediante MEME-ChIP. Arriba, se muestran los logos generados a partir una matriz de probabilidad donde el tamaño de la letra correlaciona con la ocurrencia de ese nucleótido. Se muestran las dos posibilidades de orientación de los motivos (sentido y antisentido) y el número de sitios del ChIP-seq (43 y 19) que contienen los motivos 4 y 5 respectivamente. Se indica la zona del motivo 5 que coincide con uno de los subsitios de unión de CbrB (TGTTAC o GTAACA) y algunos ejemplos de motivos similares en otros organismos procariotas (analizado mediante TOMTOM). Abajo, secuencias del ChIP-seq que contienen el motivo 5, la cadena en la que se encuentra (+, sentido, -, antisentido) y el gen que se encuentra aguas abajo. El * indica que el motivo se encontraba en la región codificante de ese gen.

4.2.4. Análisis bioestadístico paralelo del ChIP-seq con filtrado de datos.

La falta de motivos conservados en un número significativo de sitios entre los fragmentos de DNA inmunoprecipitados por CbrB, puso de manifiesto la heterogeneidad existente en la muestra. Con objeto de eliminar el ruido de fondo que impedía definir picos definidos de tamaño adecuado y en las regiones intergénicas, se realizó un segundo análisis estadístico (realizado en el grupo del Dr. Santoyo en el centro GBPA (Genomics & Bioinformatics Platform of Andalusia, Sevilla). Mediante el programa MACS2, se generaron seis subgrupos tomados al azar a partir de los *reads* generados en las dos muestras biológicas independientes. Tras sustraer las lecturas consideradas como nivel basal de ruido, se generó un nuevo listado donde se había reducido considerablemente la amplitud de los picos generados (Anexo 5). En este listado se muestran los siguientes datos: *length* (amplitud del pico), *pileup* (cuántas *reads* tiene la cima del pico, siendo la cima del pico la base con más *reads*), *fold_enrichment* (cambio del pico respecto al ruido de fondo), $-\log_{10} p\text{-value}$ y $-\log_{10} q\text{-value}$ (es otra forma de dar el *p-value* pero que aporta la misma información).

Se agruparon los datos en 4 categorías (señaladas en el Anexo 5 como categoría 1, 2, 3 y 4), según los filtros asignados al *pileup*, $-\log_{10} p\text{value}$, *fold_enrichment* y *length*. Los picos de la categoría 1 tenían las características más restrictivas y contenían aquellos picos con una amplitud inferior a 700 pb. Los de la categoría 2, seguían el mismo criterio salvo que su amplitud estaba entre 701 y 999 pb. Los picos de la categoría 3 se obtuvieron a partir de una única réplica biológica y eran los que aun teniendo características de las categorías 1 y 2 se habían quedado fuera del análisis anterior. Finalmente el resto de lecturas se categorizaron como categoría 4 (Anexo 5). Esta nueva clasificación incluye 29 candidatos en la categoría 1, 30 en la categoría 2 y 20 en la categoría 3. Las secuencias promotoras de *crcZ* y *crcY* aparecen en las categorías 1 y 2 respectivamente. Además, los datos generados se importaron en el visor de secuencias IGV (Integrative Genome Viewer; <http://www.broadinstitute.org/igv/>), que permite la visualización de cada uno de los picos en las 6 réplicas de forma independiente (Figura 49). Esto permitió comprobar la efectividad del cribado de los datos, habiendo eliminado gran parte del ruido de fondo, y la visualización de muchos de los fragmentos del ChIP-seq como picos discretos. Se observó además que estos quedaron localizados en su mayoría en regiones intergénicas. Como puede observarse en la figura 49, el pico

correspondiente a *PP2810* muestra una amplitud mayor que los de *crcZ* y *crcY* y es menos distinguible del ruido de fondo, por ello que haya sido clasificado como categoría 4. Se visualizó además un pico adicional dentro de la secuencia codificante de *CbrB*.

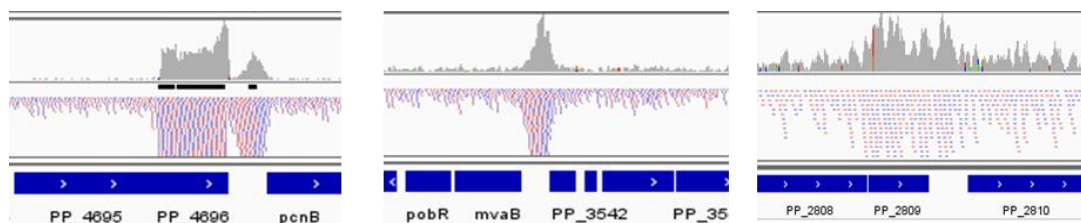


Figura 49. Representación gráfica obtenida mediante el visualizador de picos de ChIP-seq Integrative Genome Viewer (IGV). De izquierda a derecha, los picos correspondientes a las regiones promotoras de *crcZ* y *PP4696(cbrB)*, *crcY* y *PP2810*.

Al identificar los 79 picos principales, se observó que 18 estaban también incluidos entre los 117 picos del análisis del ChIP-seq realizado anteriormente (marcados con “yes” en la columna IGB del Anexo 5). Además, de estos 18, 4 habían sido previamente señalados como potenciales dianas de *CbrB* por contener alguno de los subsitios predichos (ver Tabla 6): *PP4696.1 (crcZ)*, *PP0036* (LysR transcriptional regulator), *PP3540.1 (crcY)* y *PP3619* (hypothetical protein).

Como resumen, alguna de las posibles desventajas de esta nueva clasificación es que, al ser muy restrictiva, puede llevar a la pérdida de dianas importantes, como ocurre con la secuencia promotora de *PP2810* (cuya regulación por *CbrB* demostramos en el Capítulo 3) y queda categorizada como *rank 4*. Sin embargo, la ventaja principal es que, al reducirse la amplitud de los picos, esto facilita la posterior búsqueda de posibles subsitios de unión de *CbrB* centrándonos en las zonas más representativas de la inmunoprecipitación. El listado de picos del Anexo 5 se encuentra actualmente en análisis y probablemente podrá aportar algún otro candidato al que *CbrB* se una.

4.3. Capítulo 3: Estudio de la regulación mediada por CbrB de otros genes identificados en el ChIP-seq.

Los resultados obtenidos del análisis de ChIP-seq permitieron identificar una serie de fragmentos que contenían genes candidatos de ser regulados por CbrB. Para hacer un cribado de los ciertamente regulados de aquellos que podrían ser falsos positivos, se buscaron en las regiones promotoras comprendidas en los fragmentos posibles sitios de unión de CbrB según lo descrito en (Abdou et al., 2011), así como secuencias consenso de unión del factor σ^N de la RNAP. Se localizaron cuatro fragmentos que conservaban exactamente la secuencia consenso TTGTAC (subsitio F1) y GTAACA (subsitio R1); dos de ellos correspondían a las regiones promotoras de *crcZ* y *crcY* (con un espaciamiento de 14 y 29 nt cada uno), y además se localizaron otras dos secuencias promotoras que correspondían a los genes *PP2810* y *PP3327*, que tenían un espaciamiento entre subsitios de 143 y 29 pb, respectivamente. Dado que todas ellas contenían además una posible secuencia consenso de unión del factor σ^N bastante conservada, se procedió al estudio del mecanismo de activación transcripcional de estos genes por parte de CbrB.

4.3.1. Regulación de la transcripción del gen *PP2810* mediada por CbrB

4.3.1.1. Análisis *in silico* de la región promotora

El gen *PP2810* está anotado en la base de datos TIGR como un gen que codifica una proteína hipotética conservada entre las diferentes especies del género *Pseudomonas*. La predicción de dominios mediante Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) la clasifica en una familia de proteínas de unos 475 aminoácidos de longitud con función desconocida, presente principalmente en *Pseudomonas* pero también en *Shewanella oneidensis* y *Thauera aromatica*. En su contexto genómico parece estar formando un operón con los genes *PP2811* (proteína hipotética), *PP2812* (transportador de membrana) y *PP2813* (proteína con múltiples residuos BNR (*Bacterial Neuraminidase Repeat* o cajas Asp) (Figura 50). La región intergénica aguas arriba de *PP2810* consta de 472 pares de bases entre el codón de *stop* del gen *PP2809* y el codón de inicio de *PP2810*. El análisis de su secuencia permitió identificar dos subsitios (F' y R1) que cumplen el consenso de sitios de unión de CbrB obtenido para *P. putida* (TGTTAC-Nx-GTAACA), separados sus centros por 162 nucleótidos. Además, se localizó otra región que cumplía el consenso establecido para

promotores del tipo σ^N (GG-N₁₀-GC) y otros subsitios que podrían ajustarse a los subsitios perfectos de CbrB con ciertos residuos no conservados, TaTTAA (subsitio F1, tipo TGTTAC) y aTAAtg (subsitio R2, tipo GTAACA).

En la figura 50 se muestra la secuencia de la región intergénica con los sitios predichos mediante el análisis de dicha secuencia. La información obtenida del análisis *in silico* de la región promotora de *PP2810* constituyó una valiosa información orientativa a la hora de realizar los análisis moleculares de esta región, que se describen en los siguientes apartados de esta tesis.

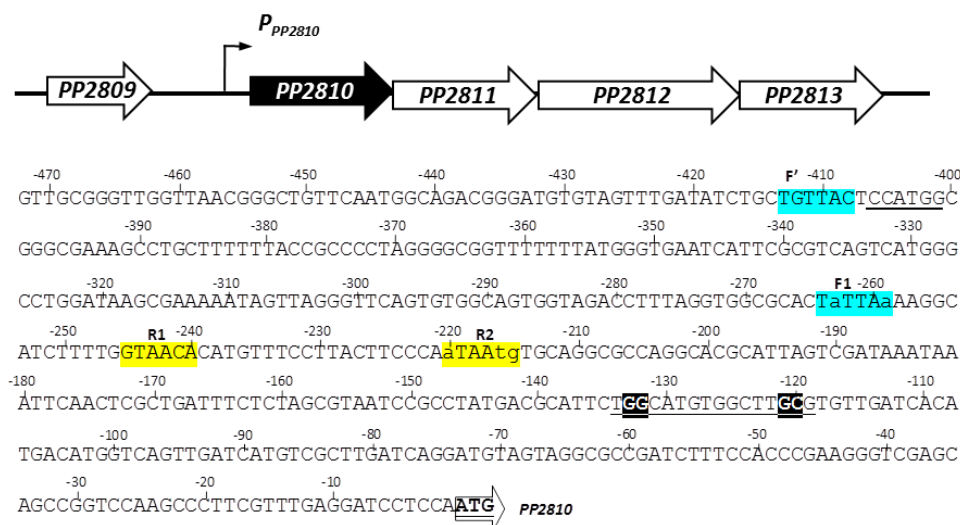


Figura 50. Contexto genómico de *PP2810*. Esquema del contexto genómico de *PP2810* (arriba) en *Pseudomonas putida* junto con la secuencia de su región promotora desde la posición -472 respecto al inicio de la traducción (ATG, en negrita). La fecha indica el inicio de la traducción de *PP2810*. Secuencia subrayada con cajas negras, posible promotor tipo σ^N ; cajas en azul, posibles subsitios de unión de CbrB, tipo F (TGTTAC); cajas en amarillo, posibles sitios de unión de CbrB, tipo R (GTAACA). Diana NcoI (CCATGG) subrayada.

4.3.1.2. Estudio de la unión de CbrB a la región promotora de *PP2810*.

Con objeto de estudiar si CbrB se unía directamente a la región promotora de *PP2810* se realizaron ensayos de retardo en gel (EMSA). Para ello se utilizó un fragmento de DNA con la región promotora de *PP2810* que contenía los posibles sitios de unión de CbrB (266 pb; coordenadas -208 a -466 desde el ATG), y se obtuvo por amplificación por PCR del plásmido pMPO399 como molde, con los oligonucleótidos PP2810XbaI/

PP2810SmaI. Este plásmido contenía un fragmento amplificado a partir de DNA genómico con estos mismos oligonucleótidos y clonado XbaI/SmaI en el vector pUC18Sfi. El fragmento de DNA se incubó con cantidades crecientes de CbrB en presencia de DNA competidor inespecífico y se resolvió según su movilidad electroforética en un gel de acrilamida. Los resultados mostraron que CbrB se unía eficientemente a esta secuencia promotora (Figura 51, carriles 7 a 9).

Para identificar a qué región de la secuencia se unía CbrB, y dado que la separación entre los dos subsitios de unión F' y R1 era de 162 pb, la región promotora se dividió en dos fragmentos que contenían el primer subsitio (F') y otro fragmento de mayor tamaño que incluía los subsitios F1, R1 y R2. El fragmento que contenía F' (TGTTAC) se obtuvo por restricción con NcoI del producto de PCR generando un fragmento de 64 bp (coordenadas -466 a -406 respecto al ATG) otro fragmento de 202 pb NcoI/SmaI que contenía los subsitios F1, R1 y R2 (coordenadas -407 a -208 respecto al ATG). El análisis por EMSA mostró una diferencia en la movilidad en presencia de CbrB en aquellos fragmentos que contenían los posibles subsitios F1, R1 y R2 (carriles 1 al 3) y del que contenía el promotor completo (carriles del 7 al 9). La unión de CbrB al sitio F' (carriles del 4 al 6) por si solo no era suficiente para provocar un retraso en la movilidad electroforética del fragmento (Figura 51). Como control se llevó en paralelo un fragmento que contenía el *PcrcY* (carriles 10- 12).

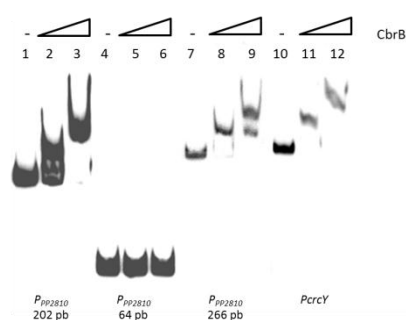


Figura 51. Unión de CbrB a la región promotora de *PP2810*. EMSA realizado con un fragmento lineal que contenía un fragmento de 202 bp digerido NcoI/SmaI que contiene los posibles subsitios F1, R1 y R2 (carriles 1-3), un fragmento de 64 bp digerido XbaI/NcoI que contiene F' (carriles 4-6), y un fragmento completo de 266 pb digerido XbaI/SmaI (F', F1, R1 y R2; carriles 7-9). Como control positivo se utilizó el promotor de *crcY* (carriles 10-12). Las concentraciones de CbrB fueron de 0, 0,85 y 1,4 μ M (con un ratio molar DNA: dímero de CbrB de 1:283 y 1:467, respectivamente).

4.3.1.3. Análisis *in vivo* de la expresión de *PP2810*.

Para estudiar el control transcripcional de CbrB sobre *PP2810* se construyó una fusión transcripcional de su región promotora al gen *lacZ* en el vector pMPO234. Para ello se amplificó por PCR un fragmento que contenía la región intergénica completa aguas arriba de *PP2810* (468 pb, coordenadas -472 a -10 desde el ATG) a partir de DNA genómico, empleando los oligonucleótidos PP2810F y PP2810R. El fragmento se clonó en el vector pMPO234 en las dianas EcoRI y BamHI dando lugar al plásmido pMPO420. Este vector se introdujo mediante conjugación triparental en las estirpes de *P. putida* KT2442 (silvestre) y MPO401 (mutante $\Delta cbrB$) y se cuantificó la actividad β -galactosidasa en medio LB y medio mínimo con succinato. Además se analizó también la expresión de *PP2810* en un medio mínimo que contenía oxalacetato como fuente de carbono, ya que había comprobado que era un medio que provocaba una alta inducción del sistema tanto en *P. putida* como en *P. aeruginosa* (Capítulo 4, apartado 4.4.6). Como ya se había detectado para otros genes activados por CbrB, como *crcZ* y *crcY*, la actividad β -galactosidasa en la estirpe silvestre fue 2,4 veces superior en un medio mínimo con succinato (condiciones de ausencia de represión catabólica) en comparación con el medio LB (represión catabólica) (Figura 52).

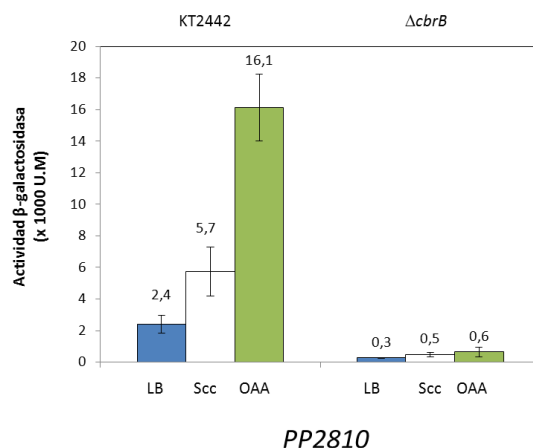


Figura 52. Análisis *in vivo* de la expresión de *PP2810*. Actividad β -galactosidasa de la fusión transcripcional *PP2810::lacZ* (plásmido pMPO420) en las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ cultivada en medio LB (barras azules), y medio mínimo con succinato (barras blancas) y oxalacetato (barras verdes) como fuentes de carbono. Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

Además, los niveles de actividad en un medio con oxalacetato fueron 6,7 veces mas altas que en LB, lo que mostraba que los niveles de inducción en este medio eran superiores al medio con succinato. El mutante $\Delta cbrB$ presentó niveles de actividad muy bajos en todos los medios ensayados, confirmando la dependencia de CbrB de *PP2810* (Figura 52).

4.3.1.4. Mutagénesis dirigida en los subsitios de unión de CbrB en la secuencia promotora de *PP2810*.

Con el objeto de analizar la relevancia de los subsitios F', F1, R1 y R2 en la activación de la expresión de *PP2810* se construyeron fusiones transcripcionales de la región promotora al gen *lacZ* con fragmentos que incluían modificaciones de los posibles sitios de unión de CbrB (F', F1, R1 y R2). De este modo, se construyeron 4 vectores que tenían las siguientes modificaciones:

- pMPO422: clonación de un fragmento de DNA de 403 pb (coordenadas -10 a -408 desde el ATG) del promotor de *PP2810* digerido EcoRI/BamHI en el vector pMPO234 amplificado por PCR con los oligonucleótidos PP2810fwdmut y PP2810R. Con esta construcción se delecionó el subsitio F' (TGTTAC) más distal del promotor.
- pMPO425: es un plásmido derivado del pMPO422 al cual se le ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos pp2810mutlfwd y pp2810mutlrev una mutación en el subsitio F1 (TaTTAa) que pasa a ser gcggcg.
- pMPO426: es un plásmido derivado del pMPO422 al cual se le ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos pp2810mutllfwd y pp2810mutllrev una mutación en el subsitio R1 (GTAACA) que pasa a ser agcctc.
- pMPO428: es un plásmido derivado del pMPO422 al cual se le ha introducido por PCR solapante con los oligonucleótidos pp2810mutlllfwd y pp2810mutlllrev una mutación en el subsitio R2 (aTAAtg) que pasa a ser gcggcg.

Para la construcción de los plásmidos pMPO425, pMPO426 y pMPO428 se amplificó el fragmento izquierdo de la PCR solapante con el oligonucleótido PP2810fwdmut y el oligonucleótido *reverse* de cada pareja mutagénica (pp2810mutlrev,

pp2810mutIIrev y pp2810mutIIIrev, respectivamente) y el fragmento derecho con el oligonucleótido PP2810R junto con el oligonucleótido *forward* de cada pareja mutagénica (pp2810mutI fwd, pp2810mutII fwd y pp2810mutIII fwd, respectivamente), utilizando en ambos casos el plásmido pMPO422 como molde. Ambos fragmentos (izquierdo y derecho) se usaron como molde de la PCR solapante que se realizó con los oligonucleótidos PP2810fwdmut y PP2810R, obteniéndose en todos los casos un fragmento de DNA de 403 pb que se digirió con EcoRI/BamHI y se clonó en el vector pMPO234 de fusiones transcripcionales al gen *lacZ*. En la figura 53 se muestra un esquema de los fragmentos de la región promotora de PP2810 que contiene cada vector.

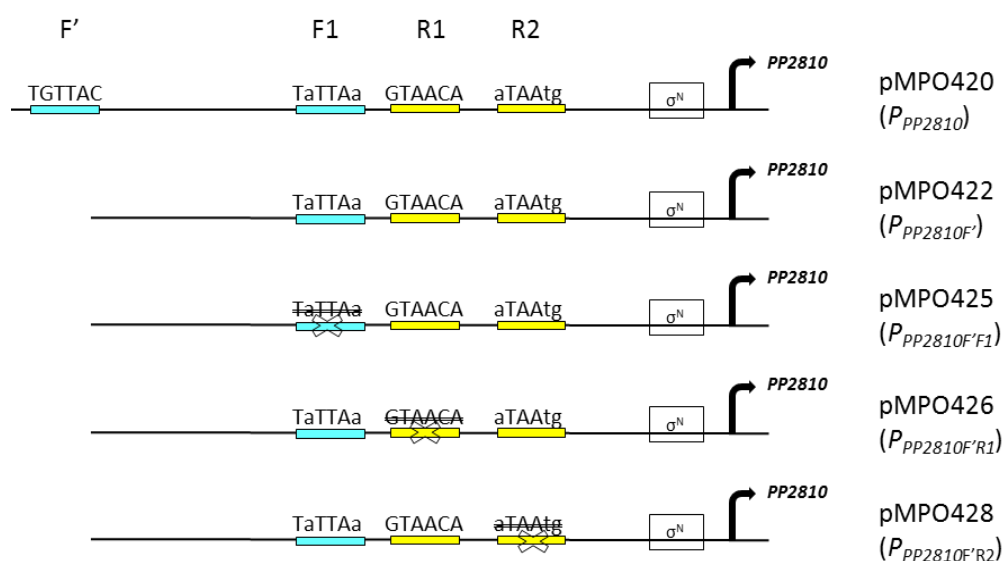


Figura 53. Esquema de las construcciones que contienen las distintas variantes del promotor de *PP2810* fusionadas a *lacZ*. Las flechas indican el inicio de la transcripción de *PP2810*; cajas blancas, posible promotor σ^N ; cajas azules, posibles subsitos de unión de CbrB tipo F (TGTTAC); cajas amarillas, posibles subsitos de unión de CbrB tipo R (GTAACA); secuencias tachadas, mutaciones generadas por PCR solapante.

Se ensayó la actividad β -galactosidasa de todas estas construcciones en *P. putida* KT2442 (silvestre) creciendo en LB y medio mínimo con succinato y oxalacetato como fuente de carbono. Los ensayos de actividad β -galactosidasa revelaron que la expresión de *PP2810* en el plásmido donde se había delecionado el subsito F' más distal del promotor (pMPO422), no presentaba diferencias apreciables respecto a la construcción silvestre (pMPO420) (Figura 53), por lo que se utilizó esta versión carente de F' como

referencia para estudiar el efecto de las mutaciones en los otros sitios. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 54. Los niveles de activación de la fusión transcripcional que carecía del subsitio F' y contenía mutaciones puntuales en el subsitio F1 (plásmido pMPO425) fueron similares a los obtenidos con la fusión corta pMPO422, de un 160%, 129% y 120% en LB, succinato y oxalacetato respectivamente. Sin embargo, la mutación en el subsitio R1 (plásmido pMPO426) redujo notablemente estos niveles en los tres medios ensayados, un 23% 21% y 17% respecto a pMPO422. Las mutaciones en el subsitio R2 (plásmido pMPO428) resultaron en unos niveles del 55 % en LB, 7% en succinato y un 66% en oxalacetato respecto a los niveles de F'.

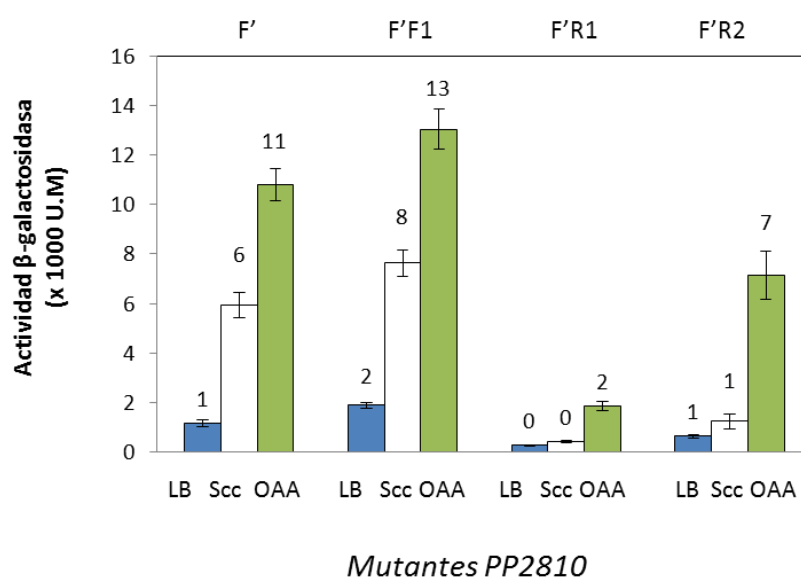


Figura 54. Análisis *in vivo* de las fusiones transcripcionales silvestre y mutantes de *PP2810*. Actividad β -galactosidasa de las versiones mutadas de los sitios de unión de CbrB en la región promotora de *PP2810*, en los plásmidos pMPO422 (F'), pMPO425 (F'F1), pMPO426 (F'R1) y pMPO428 (F'R2) en *P. putida* cultivada en LB (barras azules), succinato (barras blancas) y oxalacetato (barras verdes). Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

Por lo tanto, los subsitios tipo F (F';TGTTAC y F1;TaTTAa) no parecen jugar un papel muy importante en la activación del promotor de *PP2810* mediada por CbrB, mientras que los subsitios tipo R (R1;GTAACA y R2;aTAAtg) tienen una implicación más importante en la activación de este promotor. Para el caso de F', estos resultados correlacionaron con el resultado obtenido en el ensayo de unión EMSA (Figura 51),

donde se observó que el subsitio F' era perfectamente dispensable para una unión efectiva de CbrB a la secuencia promotora de *PP2810*.

4.3.1.5. Comparación de la secuencia promotora de *PP2810* con otras *Pseudomonas*.

La comparación de la secuencia promotora de *PP2810* de *P. putida* KT2440 con la de otras *Pseudomonas* mostró que de los tres subsitios identificados (F1, R1 y R2) el que se encuentra más conservado (al menos entre *P. aeruginosa* y *P. putida*) es el subsitio R1. Sin embargo, algunas especies de *P. aeruginosa* presentan un F1 perfecto (TGTTAC) mientras que en *P. putida* este está degenerado (TaTTAa) o es inexistente (HB3267). *P. denitrificans* y *P. fluorescens* mostraron unas posiciones relativas de los subsitios muy alejadas de las de *P. putida* (Figura 55).

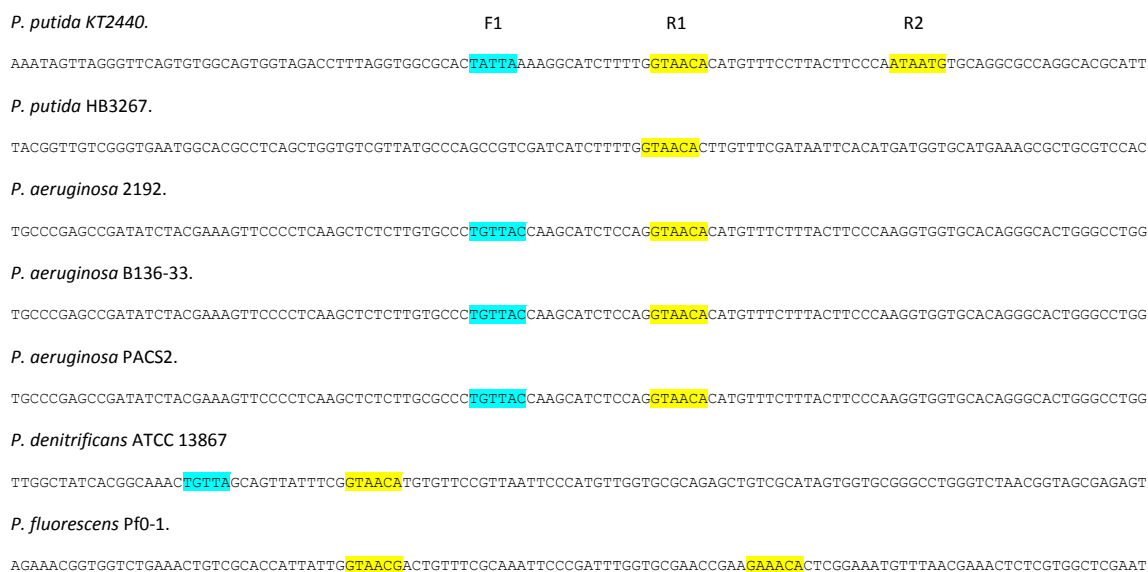


Figura 55. Alineamiento de la secuencia de la región promotora de *PP2810* en diferentes especies de *Pseudomonas*. El alineamiento se realizó con las secuencias aguas arriba de las GG conservadas del promotor σ^N (coordenadas desde -203 a -84).

4.3.2. Regulación de la transcripción del gen *PP3327* mediada por CbrB.

4.3.2.1. Análisis *in silico* de la región promotora del gen *PP3327*.

El pico número 92 del ChIP-seq comprendía un fragmento de 1711 pb que contenía los genes *PP3327* y *PP3328*. Al buscar homólogos de *PP3327* empleando la herramienta blastX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), se encuentran proteínas del tipo simportadoras de protones, glutamato y glutamato/aspartato con una alta homología en la secuencia de aminoácidos (99%). Además, aguas arriba de este gen (que se encuentra en la cadena antisentido del DNA) se identificaron dos posibles cajas con identidad perfecta de unión de CbrB (una tipo F (TGTTAC; azul) y otra tipo R (GTAACA; amarilla), separadas 29 pb. Aguas abajo de cada una de estas dos cajas se detectaron otras dos cajas (una F y otra R), que tenían dos y una base con identidad imperfecta (cGTTAa; azul y GTAACt; amarilla) (Figura 56). Los posibles subsitios de unión de CbrB se localizaban sobre la región codificante del gen *PP3328*, que estaba anotado en el genoma de *P. putida* como una proteína hipotética putativa, y a la que no se le había asignado función. A pesar de ello, dada la correcta alineación con las cajas de los promotores previamente caracterizados (*crcZ*, *crcY* y *PP2810*), y la presencia de una secuencia conservada de una caja σ^N (TGGTATGAAACATGAG; score 3,7) se valoró que podía ser un buen gen candidato a estar regulado por CbrB (Figura secuencia 56). Además existía una segunda distribución en la organización génica de estos genes, en la que los posibles subsitios de unión de CbrB se dispondrían en la cadena sentido aguas arriba del gen *PP3329*. En este caso, también se identificó una caja σ^N con una puntuación de 10,18, que podría servir para iniciar la transcripción del gen *PP3329* o bien algún gen localizado en la región intergénica que no estuviera anotado. En este caso la caja σ^N (TGGCAACCCGATCGAA) quedaría localizada solapando con el subsitio R2 de unión de CbrB (Figura 56). Haciendo una búsqueda en Blast para un posible *PP3328.1*, se encontró un regulador transcripcional del tipo LysR, con un 87% de homología en la secuencia de aminoácidos.

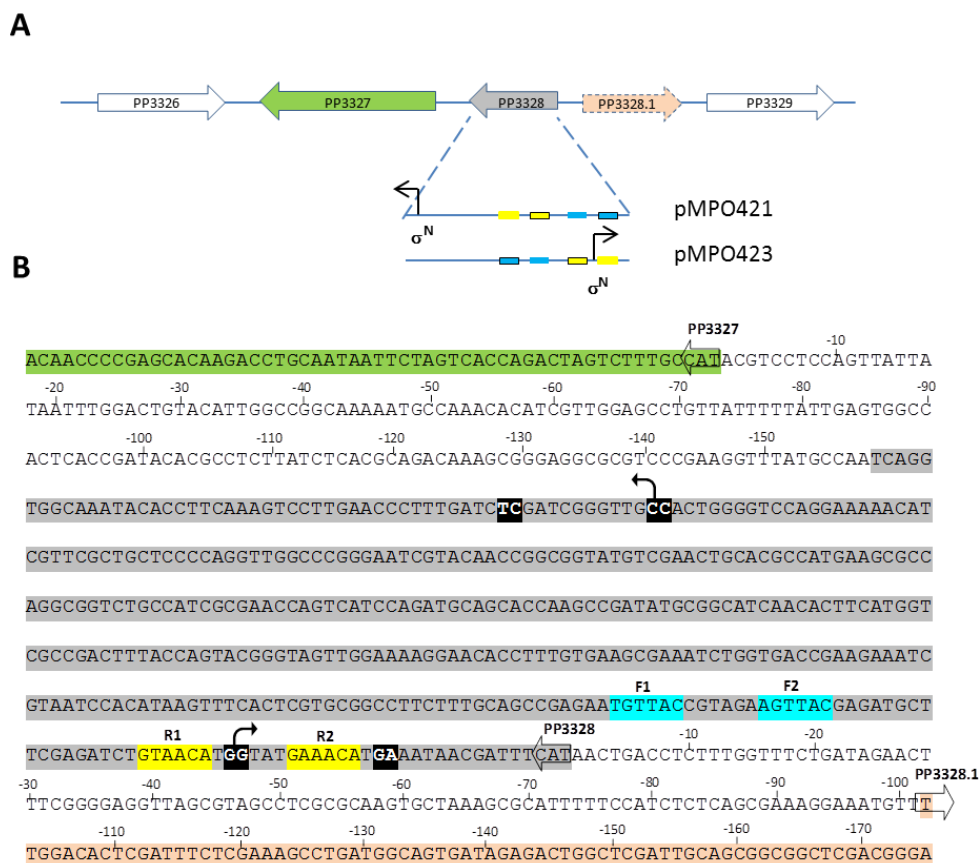


Figura 56. Contexto genómico de *PP3327*. **A)** Organización génica de los genes *PP3326*, *PP3327*, *PP3328*, putativo *PP3328.1* y *PP3329* con una ampliación de la región codificante de *PP3328* donde se representan las fusiones génicas de los plásmidos pMPO421 y pMPO423. **B)** Esquema de la región aguas arriba de *PP3327*. En verde, parte de la secuencia codificante de *PP3327*; en gris, secuencia de *PP3328* completa; flechas anchas, inicio de la traducción de *PP3327*, *PP3328* y putativo *PP3328.1*; secuencia con cajas negras, posibles promotores tipo σ^N con una flecha estrecha que indica su orientación; cajas en azul, posibles subsitios de unión de CbrB, tipo F (TGTTAC); cajas en amarillo, posibles sitios de unión de CbrB, tipo R (GTAACA). Los números representan las coordenadas respecto al inicio de la traducción de *PP3327* (aguas arriba) y *PP3328* (aguas abajo).

4.3.2.2. Análisis *in vivo* de la expresión de *PP3327*.

Para explorar la posible regulación por CbrB de esta región, se realizaron dos fusiones génicas al gen *lacZ* que contenían la secuencia en las dos orientaciones, ya que en ambas se había detectado una posible caja de unión de σ^N , que contenían posibles sitios de unión de CbrB. La primera fusiona la región intergénica de *PP3327* a *lacZ* en la

cadena antisentido, y la segunda fusiona la misma región en la orientación opuesta (cadena sentido) y revelaría una posible regulación de CbrB del gen putativo *PP3328.1*, o *PP3329* (56).

La primera fusión transcripcional se denominó pMPO421 ($P_{PP3327}::lacZ$) y contenía un fragmento de 708 pb amplificando desde DNA genómico con los oligonucleótidos PP3327F y PP3327R que comprendía desde la coordenada +24 desde el ATG de inicio de *PP3327* hasta la posición -111 aguas arriba del inicio de traducción ATG de *PP3328*, clonado en el vector pMPO234 en las dianas EcoRI/BamHI. La segunda fusión transcripcional se denominó pMPO423 ($P_{PP3328.1}::lacZ$). Contenía el mismo fragmento anterior, digerido con EcoRI y BamHI y hecho romo con la enzima Klenow, y fue posteriormente clonado en la diana SmaI de pMPO234, y comprobado por secuenciación que se encontraba en la orientación contraria.

Ambas fusiones, $P_{PP3327}::lacZ$ y $P_{PP3328.1}::lacZ$ resultaron tener niveles equivalentes de actividad β -galactosidasa tanto en la estirpe silvestre KT2442 como en la mutante *cbrB*. Solo pudo detectarse cierta reducción de la actividad en el mutante *cbrB* (1,38 veces), para los cultivos con *PP3327* en medio mínimo con oxalacetato, pero no se consideró una diferencia significativa al mantenerse los niveles silvestres en los otros medios testados (LB y succinato) (Figura 57).

A pesar de tener dos subsitios putativos de unión de CbrB perfectos y otros dos subsitios con una conservación elevada en el promotor de *PP3327* ni el del posible *PP3328.1* parecen estar regulados por CbrB, al menos en las condiciones y con los elementos aportados en nuestro ensayo.

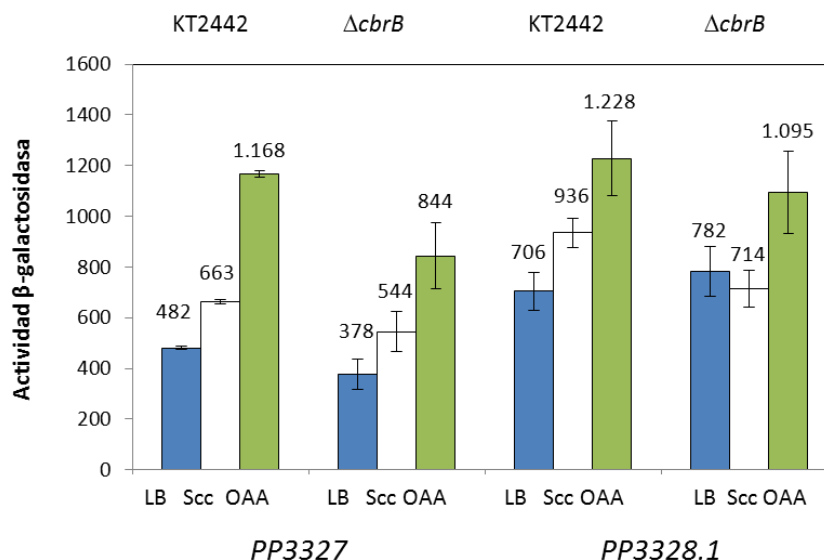


Figura 57. Análisis *in vivo* de la expresión de *PP3327* y *PP3328.1*. Actividad β-galactosidasa de las fusiones transcripcionales $P_{PP3327}::lacZ$ (plásmido pMPO421) y $P_{PP3328.1}::lacZ$ (plásmido pMPO423) en las estirpes silvestre y mutante $\Delta cbrB$ cultivadas en medio LB (barras azules), medio mínimo con succinato (barras blancas) y oxalacetato (barras verdes) como fuentes de carbono. Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

4.3.3. Alineamiento de las secuencias promotoras de aquellos genes que presentan al menos dos subsitios de unión de CbrB perfectos: *crcZ*, *crcY*, *PP2810* y *PP3327*.

De los genes estudiados hasta la fecha, en los únicos que se ha demostrado una regulación directa de su actividad mediada por CbrB en respuesta a diferentes fuentes de carbono han sido *crcZ*, *crcY* y *PP2810*. Con objeto de comparar la secuencia promotora de los mismos, se realizó un alineamiento de su secuencia (Figura 58). Mediante este sencillo análisis pudimos comprobar que la distancia entre subsitios era variable pero en torno a 13-14 nt entre F1 y R1 y de entre 16-18 nt entre R1 y R2 y que la conservación de los residuos no era requisito indispensable para que una secuencia pudiera ser considerada un subsitio de unión de CbrB, lo que incrementa la complejidad en la búsqueda de nuevos promotores regulados por esta proteína. Alineando la región promotora aguas arriba de *PP3327* y la del putativo *PP3328.1* se observa una distribución similar a la de los candidatos regulados positivamente por CbrB salvo que el subsitio R1

se encuentra desplazado y, a pesar de poseer un subsitio R' perfecto, carecen del subsitio R2. Nuestros resultados indican que esta diferencia en la distribución de los subsitios sea la causa de que este promotor no esté regulado por CbrB.

Dada esta peculiar forma de regulación nos preguntamos cual podría ser la conformación molecular que adoptaría CbrB para efectuar su unión a la secuencia promotora de estos genes. Como premisa inicial, por su homología con el regulador NtrC, se suponía que sería en forma de dímero pero esta hipótesis no casaba con la información de la que disponíamos en ese momento.

	F1	R1	R'	R2
> <i>crcZ</i>				
CTCCCGTAAAAATCT	TGTTAC	CCAAGCTTTCCGCC	GTAACA	GTCCCGAGGCGTACG
			GTAACg	AAATTGCGACATTTTGAA
> <i>crcY</i>				
TGGTGTGGGTGAAG	TGTTAC	CTCCCGCACAT	TtTcacAgCA	AAAAATCGG
			GTAACA	GGGaAACAAATCGGCAGAATTCAGG
> <i>PP2810</i>				
TTTAGGTGGCGCAC	TaTTAa	AAGGCATCTTTTG	GTAACA	CATGTTTCCTTACTTCCCA
			aTAAtg	TGCAGGCGCCAGGCAC
> <i>PP3327</i>				
CATGTTTCATACCA	TGTTAC	AGATCTCGAAGCATCTC	GTAACt	TCTACG
			GTAACA	TTCTCGGCTGCAAAGAAGGCCGCACG

Figura 58. Alineamiento de la secuencia promotora de *crcZ*, *crcY*, *PP2810* y *PP3327*.

Alineamiento de las secuencias promotora de *crcZ* (coordenadas -163 a -84, respecto al inicio de la transcripción), *crcY* (coordenadas -164 a -84, respecto al inicio de la transcripción), *PP2810* (coordenadas -278 a -199, respecto al inicio de la traducción) y *PP3327* (coordenadas -476 a -557, respecto al inicio de traducción de *PP3327*). Cajas en azul, posibles subsitios de unión de CbrB, tipo F (TGTTAC); cajas en amarillo, posibles sitios de unión de CbrB, tipo R (GTAACA).

4.3.4. Determinación del estado de oligomerización de CbrB: filtración en gel.

Dado que las regiones que reconoce CbrB en los promotores que controla, no están formando palíndromes, que sería lo esperado para una proteína que forma un dímero, como las proteínas de la familia de NtrC, se procedió a estudiar el estado de oligomerización de CbrB en solución. Para ello, se realizó un ensayo de filtración en gel con la preparación de proteína utilizada para los experimentos *in vitro*, que había resultado ser activa, y capaz de unirse al DNA.

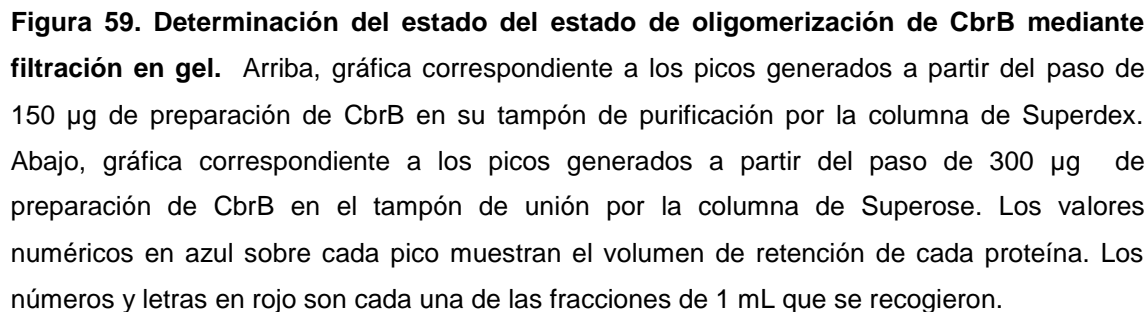
Se realizaron dos ensayos independientes de filtración en gel, uno que determinara el estado de oligomerización de CbrB en el tampón de purificación y otro que lo hiciera en el tampón de unión de los experimentos *in vitro* como se detalla en el

apartado 3.4.8. de materiales y métodos.. Para el primer ensayo de filtración en gel, se utilizó la columna Superdex 200 10/300 (que permite un rango de separación de entre 10 y 600 KDa) acoplada a un sistema ÄKTA como se detalla en materiales y métodos. Se equilibró la columna en el tampón de purificación de la proteína y se inyectaron en el sistema 100 µL de una preparación de CbrB a 1,5 µg/ µL (150 µg totales) y se monitorizó su paso a través de la matriz de exclusión molecular. Para determinar el peso molecular de los picos obtenidos en el cromatograma en función de los volúmenes de retención de los mismos, se cargaron los patrones estándar ovoalbúmina (43 KDa), albúmina (67 KDa), aldolasa (158 KDa) y catalasa (232 KDa) y además el marcador azul dextrano. En función del tamaño de los patrones y los volúmenes de retención se representó una recta patrón que resultó ajustarse con un coeficiente de regresión de $R^2 = 0,97$ a la siguiente fórmula $y = -0,083\ln(x)+0,6821$, donde “x” es el peso molecular en KDa y donde “y” representa el parámetro K_{av} que es relativo al volumen de retención (V_R) de cada muestra (para su definición ver apartado 3.4.8 de materiales y métodos).

Los picos principales detectados en este ensayo presentaban un V_R de 11,66 mL (con un área de 2 mAU) y 13,07 mL (con un área de 8 mAU) los cuales correspondían con un peso molecular de 192,09 KDa y 73,50 KDa respectivamente (Figura 59, arriba). La proteína CbrB tiene un peso molecular de unos 55 KDa. A esto habría que sumarle la cola His-tag de unos 2,1 KDa. Por tanto, a la vista de los resultados, podemos concluir que el pico mayoritario con un V_R de 13,07 mL se corresponde con CbrB en forma de monómero pudiendo tratarse el pico minoritario con un V_R de 11,6 mL de una pequeña fracción de CbrB en forma de dímero o alguna contaminación de la preparación con otra proteína. Este resultado muestra que CbrB se encuentra en forma de monómero principalmente en nuestra preparación de proteína.

Se realizó un segundo ensayo equilibrando la columna y las proteínas con el tampón de unión usado en los ensayos *in vitro*. Para este ensayo se utilizó la columna Superose 6 10/300 que permite un rango de separación entre 5 y 5000 Kda y las proteínas estándar ovoalbúmina (43 KDa), albumina (67 KDa), catalasa (232 KDa) y tiroglobulina (669 KDa). El ajuste a una recta del peso molecular de estas proteínas respecto al volumen de elución resultó en la ecuación $y=-0,103\ln(x)+0,9485$ con un coeficiente de regresión $R^2 = 0,9904$. En esta ocasión se inyectaron 200 µL de la misma preparación de CbrB que en el ensayo anterior (un total de 300 ug totales) y se procedió

Superdex 200 10/300 GL con el tampón de purificación



4.4. Capítulo 4: Caracterización de la proteína sensora CbrA.

4.4.1. Construcción de un mutante de delección de *cbrA* ($\Delta cbrA$, MPO413) de *P. putida* KT2442

Para la construcción del mutante de delección de *cbrA* en *P. putida*, denominado MPO413, se clonaron las regiones flanqueantes izquierda y derecha al gen, y entre ellas, se clonó el gen de resistencia a kanamicina en el vector no replicativo pEX18Tc en *Pseudomonas*. La introducción de este vector (pMPO1310) en *P. putida* KT2442 permitió seleccionar una estirpe resistente al antibiótico en la que se había producido la sustitución de *cbrA* por el módulo de la kanamicina, tras un doble evento de recombinación homóloga de las regiones flanqueantes (ver apartado 3.2.16 de materiales y métodos). A este mutante se le escindió el gen de la kanamicina, que se encontraba flanqueado por las secuencias FRT, mediante la enzima flipasa. Además de las oportunas comprobaciones de una correcta organización génica mediante amplificación por PCR, se cuantificó la expresión de *cbrA* mediante RT-qPCR con los oligonucleótidos *cbrA1Q*/ *cbrA2Q* que hibridan en una región localizada entre los dominios TM y PAS (coordenadas +1753 y +1821 desde el ATG) (Figura 60).

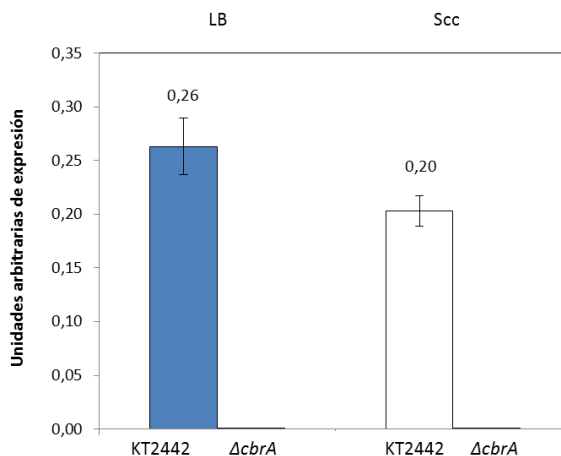


Figura 60. Análisis *in vivo* de la expresión de *cbrA* en la estirpe mutante MPO413 ($\Delta cbrA$). Niveles de expresión de *cbrA* obtenidos por RT-qPCR en las estirpes silvestre KT2442 y MPO413 ($\Delta cbrA$) cultivadas en LB (izquierda) y en un medio mínimo con succinato (derecha). Los valores son la media de tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

La expresión del gen en la estirpe silvestre fue muy baja, tanto en un medio LB como en medio mínimo con succinato como fuente de carbono, y no se detectó una variación significativa en los medios analizados. La expresión en el mutante fue prácticamente indetectable, lo que confirmó que no había expresión de *cbrA* en el mutante MPO413(Figura 60).

4.4.2. Caracterización fenotípica del mutante MPO413 ($\Delta cbrA$) y complementación cromosómica.

En primer lugar, y para validar el mutante $\Delta cbrA$ construido, se procedió a su complementación con el gen silvestre contenido en el plásmido pMPO1317 (ver figura 63). Este plásmido se construyó amplificando mediante PCR con los oligonucleótidos CbrAcompIF y CbrAcompIR un fragmento de 3462 pb que incluía *cbrA* y su promotor, se digirió con las enzimas HindIII/SspI, y se clonó en el vector pME6182 digerido con HindIII/SmaI. El plásmido pMPO1317 se integró en la estirpe mutante $\Delta cbrA$ en el sitio de integración de Tn7, *glmS*, dando lugar a la estirpe MPO454.

Con el objeto de conocer si los fenotipos que habían sido descritos para un mutante $\Delta cbrB$ (Amador et al., 2010), estaban regulados a través de CbrA, se procedió a analizarlos en un fondo $\Delta cbrA$. Para ello, se cultivaron las estirpes silvestre KT2442, mutante $\Delta cbrB$ (MPO401), mutante $\Delta cbrA$ (MPO413) y la estirpe complementada $\Delta cbrA$ -*cbrA* (MPO454) en un medio mínimo con succinato, citrato o arginina como fuente de carbono y se hizo un seguimiento del crecimiento a lo largo del tiempo (Figura 61).

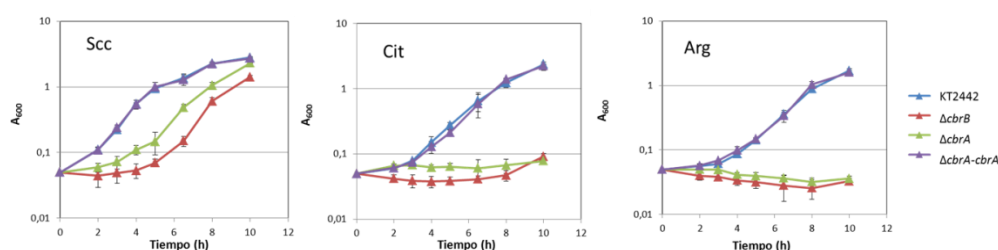


Figura 61. Curvas de crecimiento medido como aumento de la densidad óptica a 600 nm (A_{600}) en función del tiempo para las estirpes KT2442, mutante *cbrB* (MPO401), mutante $\Delta cbrA$ (MPO413) y complementada $\Delta cbrA$ -*cbrA* (MPO454). La monitorización se realizó en medio mínimo con succinato (Scc), citrato (Cit) o arginina (Arg) 20 mM como fuente de carbono. Los valores son la media de tres ensayos independientes y las barras de error corresponden a la desviación estándar de las medias.

El crecimiento de los mutantes *cbrB* y *cbrA* se vio afectado en los tres medios ensayados mientras que la estirpe complementada con *cbrA* recuperó el fenotipo de crecimiento silvestre, confirmando por tanto que la carencia de CbrA provoca la afección o incapacidad de utilizar estos compuestos como fuente de carbono, de forma similar al mutante CbrB.

4.4.3. Construcción de mutantes en los distintos dominios de CbrA.

CbrA es el elemento histidina quinasa sensora del sistema de dos componentes CbrAB, y contiene tres dominios bien definidos. El primero se compone de 13 dominios transmembrana (TM), el segundo se denomina PAS y contiene un dominio de dimerización y posible detección de señales externas, y un tercer dominio que contiene la actividad histidina quinasa y posee un residuo de histidina en la posición 766 altamente conservada, que podría ser susceptible de ser fosforilada (autoquinasa) en respuesta a la señal recibida (Figura 62).

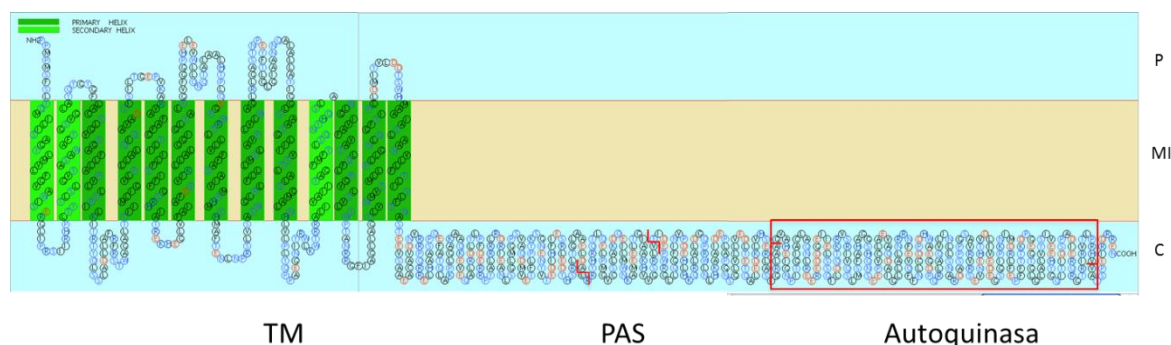


Figura 62. Esquema que muestra los dominios de la proteína sensora CbrA. De izquierda a derecha, el dominio transmembrana (TM), el dominio PAS y el dominio autoquinasa (en rojo) y su localización celular. P: periplasma, MI: membrana interna, C: citoplasma. Imagen obtenida mediante la herramienta informática SOSUI (Classification and Secondary Structure Prediction of Membrane Proteins; http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/sosui_submit.html).

Con objeto de estudiar la contribución de los dominios de CbrA en la activación del sistema regulador CbrAB, e intentar identificar una posible señal inductora del sistema, se construyeron diferentes versiones de la proteína CbrA en las cuales se deletionó cada dominio individualmente para analizar su capacidad de complementar al mutante $\Delta cbrA$.

Para facilitar la estrategia de clonación, se hizo uso de algunas de las dianas de restricción que presentaba naturalmente la proteína (SacII, EcoRI y SacI) (Figura 63).

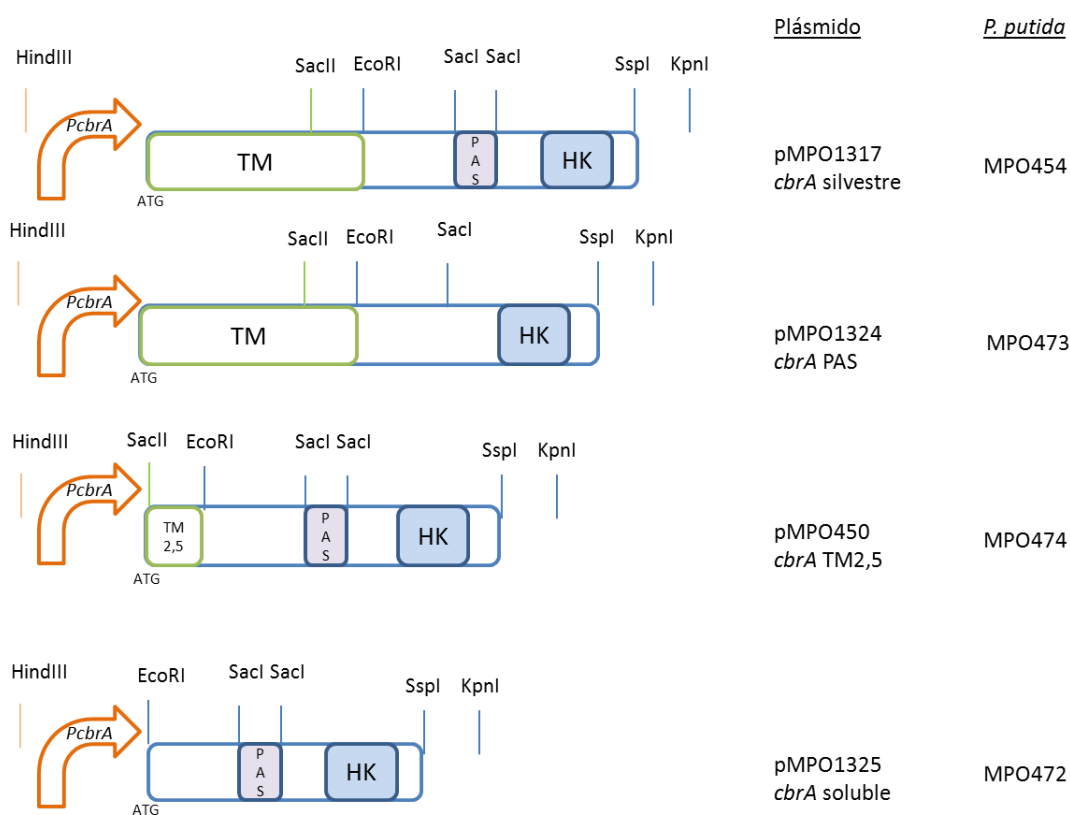


Figura 63. Esquema de las versiones silvestre y mutantes de los distintos dominios de CbrA. Arriba, esquema que muestra las dianas de restricción presentes en los dominios de CbrA silvestre en el plásmido pMPO1317. *PcbrA*: promotor de *cbrA*, TM: dominios transmembrana, PAS: dominio PAS, HK: dominio histidina quinasa (autoquinasa). También se muestran las construcciones truncadas de CbrA: PAS, TM2,5 y soluble en los plásmidos pMPO1324, pMPO450 y pMPO1325 que integradas en el genoma de $\Delta cbrA$ resultan en las

La clonación de estas secuencias en el vector pME6182, derivado de Tn7, y posterior integración en el cromosoma del mutante *cbrA*, permitió estudiar y analizar los fenotipos provocados por las diferentes versiones complementadas. Los plásmidos con las distintas versiones truncadas de CbrA construidas fueron las siguientes:

- pMPO1324 (*cbrA* PAS): clonación de *cbrA* expresada bajo su propio promotor a la que se le ha deletado la secuencia correspondiente al dominio PAS en fase con el resto de la secuencia de la proteína. Para su construcción se

purificó un fragmento de 2300 pb que contenía la el promotor y el extremo 5' de *cbrA* hasta la coordenada +1880 desde el ATG, tras digerir el plásmido pMPO1317 con las enzimas HindIII/SacI. El extremo 3', se obtuvo mediante la amplificación de DNA genómico por PCR de un fragmento de 930 pb (coordenadas +1991 a +3022 desde el ATG) con los oligonucleótidos *cbrA2103fwd/cbrAcomplR* y se digirió con las enzimas SacI/SspI. A continuación ambos fragmentos se clonaron en el vector pME6182 digerido con HindIII/SmaI. Las dos dianas SacI de *cbrA* están en fase con el ATG de inicio de traducción por tanto generando una proteína *cbrAPAS* en fase.

- pMPO450 (*cbrA* TM2,5): clonación de *cbrA* expresada bajo su propio promotor, que conserva el ATG iniciador pero le faltan a continuación 10,5 motivos transmembrana, manteniendo por tanto sólo los últimos 2,5 motivos transmembrana. Con esta versión se pretendía estudiar si el anclaje a la membrana interna era esencial para el funcionamiento de la proteína. Para su construcción se digirió el vector pMPO1317 con las enzimas SacII/KpnI y se purificó un fragmento de 1748 pb que contenía la región 3' de *cbrA* incluidos los últimos 2,5 dominios transmembrana de CbrA. La región promotora se amplificó por PCR con la pareja de oligonucleótidos CbrAcomplF/ CbrATMSacII usando DNA cromosómico como molde, y se digirió con las dianas HindIII y SacII, y se purificó un producto de 424 pb que se digirió con estas enzimas. Los dos fragmentos digeridos se clonaron junto al vector pME6182 digerido HindIII/KpnI. Esta construcción contenía el promotor de *cbrA* hasta el ATG (incluido) y a continuación la secuencia correspondiente a 2,5 dominios TM (desde la diana SacII) en fase con el resto de la proteína.
- pMPO1325 (*cbrA* soluble): clonación de *cbrA* expresada bajo su propio promotor, que conserva el ATG iniciador y el gen al que se le ha delecionado la secuencia correspondiente a los 13 dominios transmembrana en 3'. La secuencia de inicio de la traducción se encuentra en fase con el resto del gen. Para su construcción se digirió el plásmido pMPO1317 con las enzimas EcoRI/KpnI y se purificó un fragmento de 1453 pb que contenía la secuencia del extremo 3' de *cbrA*. La región promotora se amplificó por PCR con la pareja de oligonucleótidos CbrAcomplF/ CbrA3EcoRev usando DNA cromosómico

como molde, y se digirió con las enzimas HindIII y EcoRI, para generar un producto de 424 pb. Los fragmentos correspondientes a la región promotora y al gen *cbrA* truncado se clonaron en el vector pME6182 en las dianas HindIII/KpnI. Con esta clonación se incluye el promotor silvestre hasta el ATG (incluido) y después en fase la diana EcoRI con el resto de la proteína.

Los plásmidos pMPO1324, pMPO450 y pMPO1325 se integraron en la estirpe mutante $\Delta cbrA$ por el sistema de Tn7 (al igual que se hizo con la versión silvestre) dando lugar a las estirpes MPO473, MPO474 y MPO472.

4.4.3.1. Caracterización fenotípica de los mutantes en dominios de CbrA.

Para la caracterización fenotípica de los mutantes en los diferentes dominios de CbrA, se cultivaron las estirpes silvestre KT2442, MPO413 ($\Delta cbrA$), MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS), MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble) en un medio mínimo con citrato 20 mM como fuente de carbono (Figura 64). El análisis del crecimiento de las estirpes mostró que ninguno de los mutantes (PAS, TM2,5 y soluble) fue capaz de recuperar el fenotipo de crecimiento silvestre y presentaron un comportamiento idéntico al mutante $\Delta cbrA$.

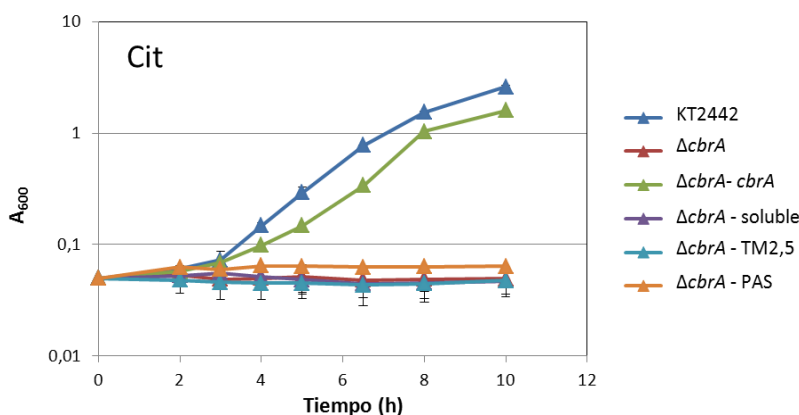


Figura 64. Curva de crecimiento medido como aumento de la densidad óptica a 600 nm (A_{600}) en función del tiempo para las estirpes silvestre KT2442, MPO413 ($\Delta cbrA$), MPO454 ($\Delta cbrA$ -cbrA), MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS), MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble). Las estirpes se cultivaron en un medio mínimo con citrato (Cit) 20 mM como fuente de carbono. Los valores son la media de tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

Además se realizó un ensayo de movilidad por *swimming* de las distintas estirpes en placas de agar blando al 0,25% con medio mínimo con succinato como fuente de carbono. Esta aproximación pretendía detectar un defecto en movilidad o en quimiotaxis, puesto que conforme la bacteria consume los nutrientes localmente, se establece un gradiente de concentración de los mismos. Se inocularon las estirpes silvestre y mutantes en diferentes placas y se cuantificó su movilidad relativa a la estirpe silvestre KT2442 (Figura 65). Los mutantes MPO401 ($\Delta cbrB$), MPO413 ($\Delta cbrA$) y variantes de CbrA truncadas MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble) y MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS), presentaron una alteración considerable en su movilidad, alcanzando una movilidad disminuida en un 33, 44, 31 y 41 % respectivamente, respecto a la estirpe silvestre KT2442. Sin embargo, el mutante complementado MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) presentó niveles de movilidad relativa equivalentes a los de la estirpe silvestre o la estirpe complementada con el gen completo ($\Delta cbrA$ -cbrA, MPO454). Este resultado resultó inesperado ya que, aunque este mutante no era capaz de utilizar el citrato como fuente de carbono, no se vió afectado en la movilidad en *swimming*.

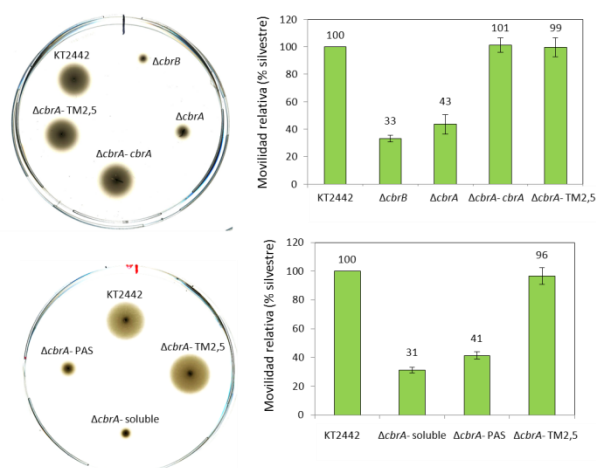


Figura 65. Ensayos de movilidad por *swimming* en agar blando. A la izquierda se muestra una réplica representativa en placas de agar al 0,25% con succinato como fuente de carbono de las estirpes silvestre KT2442, MPO401 (*cbrB*), MPO413 (*cbrA*), MPO454 ($\Delta cbrA$ -cbrA) y MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) (arriba) y KT2442, MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble), MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS) y MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) (abajo). A la derecha, representación gráfica de la movilidad de estas estirpes, medida como distancia entre el punto de inoculación y la migración final. Se muestra la movilidad relativa a la de la estirpe silvestre de un mínimo de 3 réplicas con sus respectivas desviaciones estándar.

A continuación se analizó la capacidad de las distintas estirpes complementadas con *cbrA* de activar la expresión de *crcZ*. Para ello se conjugaron cada una con el vector pMPO1316, que contenía una fusión transcripcional *P_{crcZ}::lacZ*, y se cuantificó la actividad β -galactosidasa en medio rico LB y medio mínimo con succinato como fuente de carbono. Los niveles de expresión de *crcZ* en un medio con succinato resultaron ser 1,4 veces superiores que en un medio LB tanto para la estirpe silvestre como para la estirpe MPO454 ($\Delta cbrA$ -*cbrA*). Sin embargo, la transcripción se vió drásticamente reducida en los mutantes MPO401 ($\Delta cbrB$), MPO413 ($\Delta cbrA$) y MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble) y MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS) en comparación a la estirpe silvestre (Figura 66). La única estirpe que fue capaz de activar la transcripción de *crcZ* (a un 66% de la actividad silvestre en LB, y un 47% en succinato), fue la estirpe MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5). Además, esta estirpe parecía no discriminar entre las condiciones de represión catabólica, ya que presentaba los mismos niveles de inducción tanto en LB como en un medio con succinato (Figura 66).

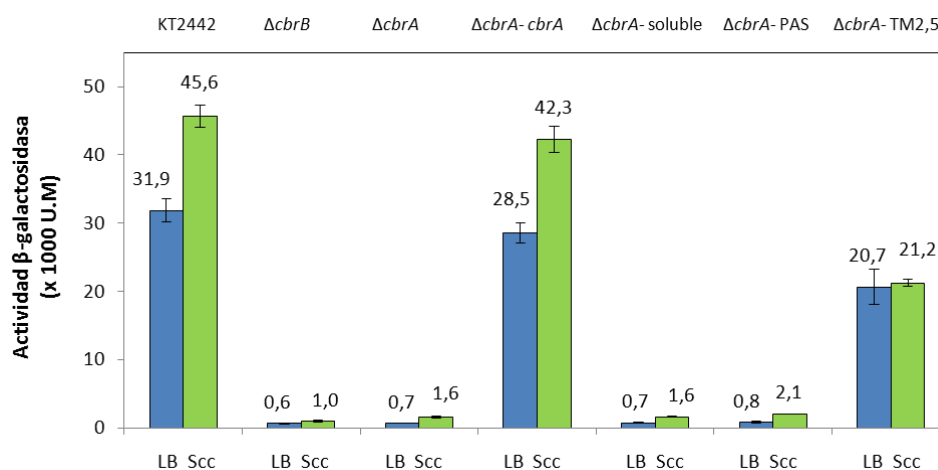


Figura 66. Análisis *in vivo* de la expresión de *crcZ* en las estirpes mutantes en los distintos dominios de *CbrA*. Actividad β -galactosidasa del plásmido pMPO1316 (*P_{crcZ}::lacZ*) en las estirpes KT2442, MPO401 ($\Delta cbrB$), MPO413 ($\Delta cbrA$), MPO454 ($\Delta cbrA$ -*cbrA*), MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble), MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS) y MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) en *P. putida* cultivadas en LB (barras azules) y succinato (barras verdes). Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

Sin embargo, y para nuestra sorpresa, una vez comprobado mediante secuenciación cada una de las construcciones con las distintas versiones de *cbrA*, se

[illegible]

159

Con todas estas premisas, resultaba por tanto de gran interés conocer el motivo por el cual el mutante MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) era capaz de activar parcialmente la transcripción de *crcZ*. Cuando se estudiaron en detalle las diferencias en secuencia de la estirpe MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble), y dado que la primera era activa en activación, mientras que la segunda no lo era, se comprobó que en la secuencia comprendida entre las dianas *SacII* (ccgcgg) y *EcoRI* (gaattc) que correspondían con los 2,5 dominios TM, se localizaban 4 ATG en fase con el ATG inicial de *CbrA*, y que podrían constituir inicios de traducción alternativos (denominados M1, M2, M3 y M4) (Figura x). Además, antes del ATG2 se identificó una secuencia *Shine Dalgarno* conservada (tGGAtGG-n7-ATG), que se ajustaba a la consenso establecida para este tipo de estructuras (AGGAGG-n7-ATG) (subrayadas en la figura 68) .

```

ctt cat cct gca gag cca acg aga tg ttc atc gcc ggg ctg ctg gcc ggc acc
ctg gtg tgg atg gtg acc atg ctg ctg ccg ctt ctc ggc aac ttg cag ggt ttc tac atc
      M1 V T M2 L L P L L G N L Q G F Y I
ccg ctg ctg gac atg atc tat gtg ctg gac gac acc agc tgg cac atg gcc gcc atc gcc
P L L D M3 I Y V L D D T S W H M4 A A I A
tcg ttg gcg gcc aac gtg ctg ctg ttc acc ctg atc tca ctg ttc acc aac gcc agc acc
S L A A N V L L F T L I S L F T N A S T
gaa gag gtc agt gcg gcc gaa gcc tgt gcc gtg gat aac gtg cgc cgc cca cag cgc cgc
E E V S A A E A C A V D N V R R P Q R R
gag ctg cac gcc gcc tcg ccg cag gaa ttc gcc acc cag ctg gcc aag ccg ctg gcc gcc
E L H A A S P Q E F A T Q L A K P L G A

```

Figura 68. Traducción desfasada en el mutante MPO474 ($\Delta cbrA$ - TM2,5). Esquema de la secuencia del mutante MPO474 ($\Delta cbrA$ - TM2,5) que abarca el promotor de *cbrA* silvestre (desde la coordenada -23 hasta el inicio de la traducción (ATG en negro) y los 2,5 dominios transmembrana comprendidos entre las dianas *SacII* (CCGCGG) en verde y *EcoRI* (GAATTC) en gris. Se muestran los codones de aminoácidos en una pauta iniciada dentro de los 4 posibles ATG (M₁, M₂, M₃ y M₄, en negrita) dentro de los 2,5 dominios TM. Posibles *Shine Dalgarno* subrayadas.

4.4.4. Construcción de mutantes en los posibles ATGs de inicio de la traducción para *CbrA*.

Para comprobar la hipótesis de un posible inicio alternativo de la traducción de *CbrA*, se construyó una versión de *cbrA* TM2,5 en la cual se delecionó la *Shine Dalgarno* y ATG desde donde se traducía la proteína *CbrA* completa, y se insertó en la diana *glmS* de Tn7 sobre el mutante $\Delta cbrA$ (MPO413). Sobre esta construcción se hicieron además

mutaciones puntuales en cada uno de los 4 ATGs individualmente (denominados ATG1, ATG2, ATG3 y ATG4). Asimismo, se generó otra versión mutante a la que se le eliminó la secuencia correspondiente a la región promotora de *cbrA*, para estudiar la posible existencia de un promotor alternativo en la región transmembrana. Los plásmidos resultantes para la construcción de las correspondientes estirpes fueron los siguientes (Figuras 69 y 70):

- pMPO451 (*cbrA* Δ SDATG): es una variante del plásmido pMPO450 (*cbrA*-TM2,5) al que se le ha delecionado la *Shine Dalgarno* y ATG silvestres de *cbrA* (Δ 18 nt). Para su construcción se amplificó por PCR un producto de 422 pb (coordenadas -421 a -18 desde el ATG silvestre) a partir de DNA genómico con los oligonucleótidos CbrAcompIF/ PcbrA-SD Rev que incorporan las dianas HindIII y SacII. Este fragmento se ligó junto a otro de 1739 pb que contenía el extremo 3' de *cbrA* incluyendo los 2,5 dominios TM, obtenido de una digestión SacII/KpnI del vector pMPO1317, y ambos se clonaron en el vector pME6182 digerido con HindIII/KpnI.
- pMPO452 (*cbrA*- Δ SDATG-ATG1): Derivado del plásmido pMPO451 en el cual se ha introducido una mutación puntual en el ATG1 que pasa a ser AgG. Se amplificó por PCR con los oligonucleótidos ATG1fwd/DelTMRHind un fragmento de 630 pb (fragmento derecho) y uno de 465 pb con ATG1rev/cbrAcompIF (fragmento izquierdo). Con ambos fragmentos como molde, se amplificó por PCR solapante con los oligonucleótidos cbrAcompIF/ DelTMR Hind un fragmento de 1077 pb (promotor y extremo 5' de *cbrA*) que se digirió con las enzimas HindIII/ EcoRI (720 pb) y se clonó junto con un fragmento de 1453 pb de pMPO1317 EcoRI/KpnI que contenía el extremo 3' de *cbrA* en el vector pME6182 digerido HindIII/KpnI.
- pMPO453 (*cbrA*- Δ SDATG-ATG2), pMPO463 (*cbrA*- Δ SDATG-ATG3) y pMPO464 (*cbrA*- Δ SDATG-ATG4): Derivados del plásmido pMPO451 en los cuales se le ha introducido una mutación puntual de un nucleótido en el segundo, tercero o cuarto ATG de los dominios TM (ATG2, ATG3 y ATG4) que pasa a ser AgG. Se construyeron de forma idéntica a pMPO452 salvo que los oligonucleótidos que se utilizaron para amplificar el fragmento derecho fueron

ATG2fwd ó ATG3fwd ó ATG4fwd /DelTMR Hind y para el fragmento izquierdo ATG2rev ó ATG3rev ó ATG4rev / cbrAcompIF respectivamente.

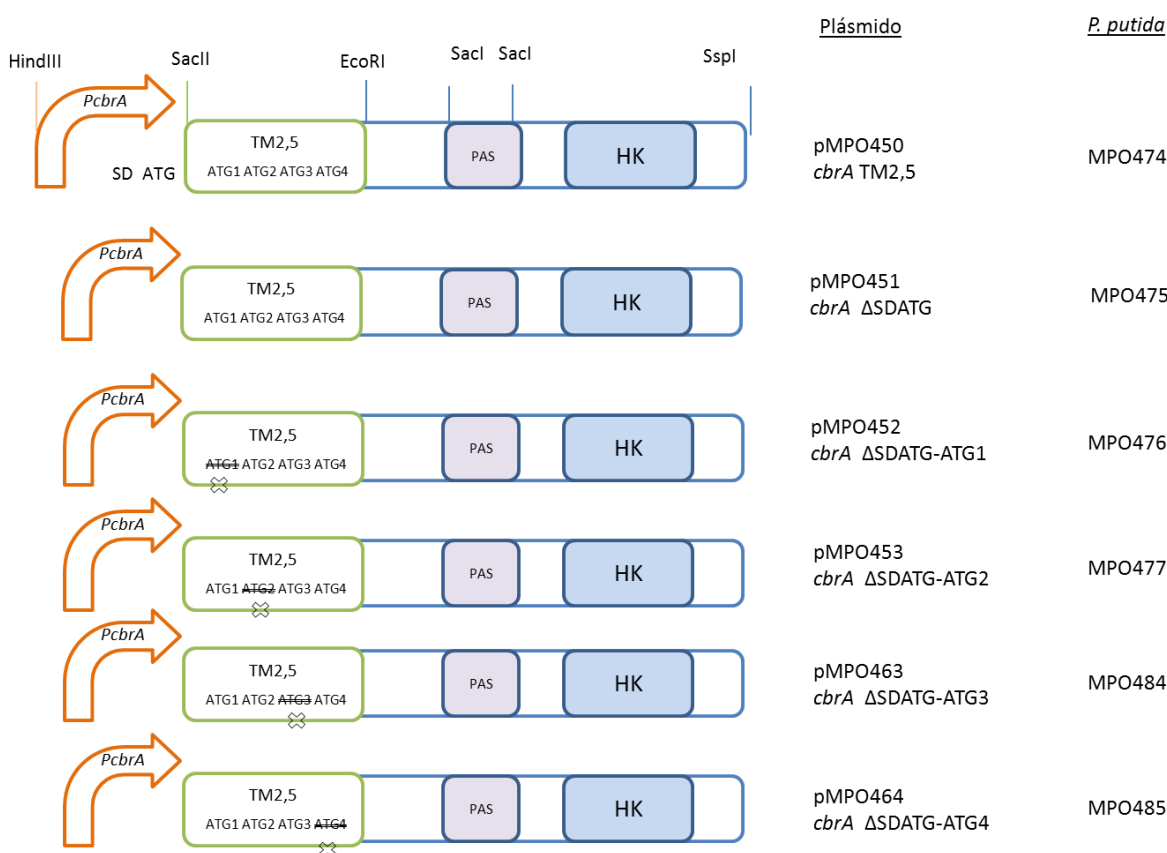


Figura 69. Esquema que muestra el diseño de los plásmidos para construir mutantes de traducción de CbrA. Estos son: pMPO451 (*cbrA*-ΔSDATG), pMPO452 (*cbrA*-ΔSDATG-ATG1), pMPO453 (*cbrA*-ΔSDATG-ATG2), pMPO463 (*cbrA*-ΔSDATG-ATG3) y pMPO464 (*cbrA*-ΔSDATG-ATG4). A la derecha, las estirpes resultantes al electroporar estos plásmidos en el mutante MPO413 (Δ*cbrA*). PcbraA: promotor de *cbrA*, , TM2,5: 2,5 dominios TM, PAS: dominio PAS, HK: dominio histidina quinasa (autoquinasa).

- pMPO462 (*cbrA*-ΔPcbraA): contiene la secuencia completa de *cbrA* desde el nucleótido +9 desde el ATG primero y anotado como iniciador de la traducción de CbrA. Se han deletado el promotor de *cbrA*, la *Shine Dalgarno* y ATG original. Para su construcción se amplificó por PCR un fragmento de 2000 pb usando como molde el plásmido pMPO1317 con los oligonucleótidos dPcbraFwd/delTMRHind que inserta la diana HindIII tras el ATG de *cbrA*

(delecionando el promotor). Se digirió HindIII/EcoRI obteniendo un fragmento de 1584 pb que se clonó junto con un fragmento de 1453 pb de pMPO1317 EcoRI/KpnI en pME6182 digerido HindIII/KpnI.

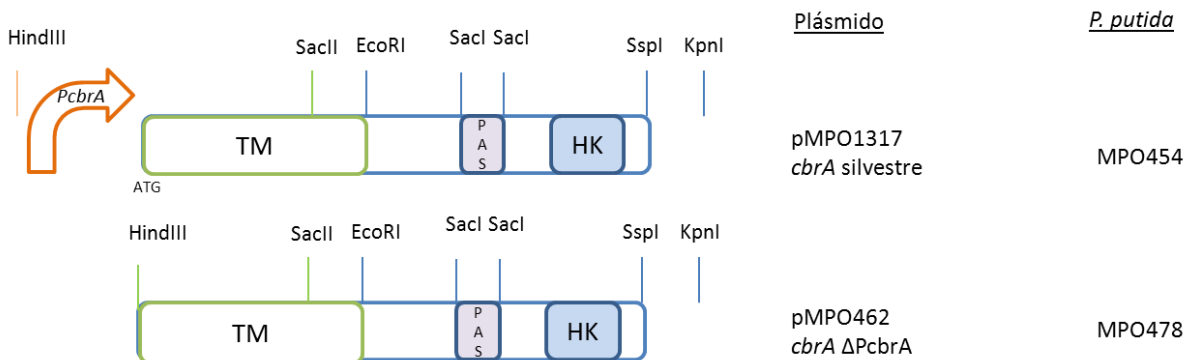


Figura 70. Esquema que muestra el diseño del plásmido para construir el mutante carente del promotor de *cbrA*: pMPO462 (*cbrA*-Δ*PcbrA*). A la derecha, las estirpes resultantes al electroporar los plásmidos en el mutante MPO413 (Δ*cbrA*). *PcbrA*: promotor de *cbrA*, TM: dominios transmembrana, PAS: dominio PAS, HK: dominio histidina quinasa (autoquinasa).

Los plásmidos pMPO451, pMPO452, pMPO453, pMPO463, pMPO464 y pMPO462 se insertaron en el sitio *glmS* de Tn7 de la estirpe mutante MPO413 (Δ*cbrA*) dando lugar a las estirpes MPO475 (Δ*cbrA*-ΔSDATG), MPO476 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG1), MPO477 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG2), MPO484 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG3), MPO485 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG4) y MPO478 (Δ*cbrA*-Δ*PcbrA*).

4.4.4.1. Caracterización fenotípica de los mutantes en los ATGs de *CbrA*.

a) Crecimiento en citrato

Para analizar el efecto de las mutaciones en los distintos ATGs localizados en *cbrA* en fase con el ATG original, se cultivaron las estirpes MPO475 (Δ*cbrA*-ΔSDATG), MPO476 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG1), MPO477 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG2), MPO484 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG3), MPO485 (Δ*cbrA*-ΔSDATG-ATG4) y MPO478 (Δ*cbrA*-Δ*PcbrA*) en un medio mínimo con citrato 20 mM como fuente de carbono y se monitorizó su crecimiento a lo largo del tiempo (Figura 71).

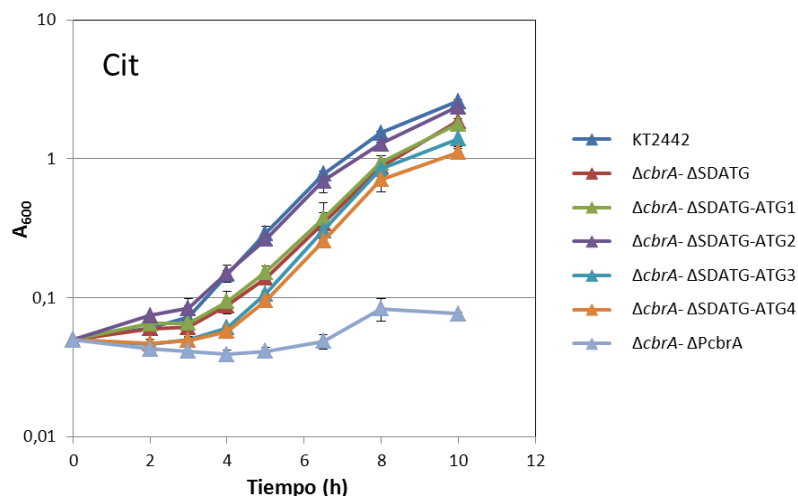


Figura 71. Crecimiento en citrato en las estirpes mutantes en la traducción de CbrA.

Curva de crecimiento medido como aumento de la densidad óptica a 600 nm (A_{600}) en función del tiempo para las estirpes silvestre KT2442, MPO475 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG), MPO476 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG1), MPO477 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG2), MPO484 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG3), MPO485 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG4) y MPO478 ($\Delta cbrA$ - Δ PcbrA), en un medio mínimo con citrato (Cit) 20 mM como fuente de carbono. Los valores son la media de tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

Este ensayo mostró que todas las estirpes que carecían de la secuencia SD y el ATG inicial de CbrA, al margen de las mutaciones adicionales en los ATG 1, 2, 3 y 4 (MPO475 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG), MPO476 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG1), MPO477 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG2), MPO484 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG3) y MPO485 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG4)) eran capaces de crecer de forma más o menos eficiente en un medio que contenía citrato como fuente de carbono (Figura 71). Sin embargo, la estirpe MPO478 ($\Delta cbrA$ - Δ PcbrA) no fue capaz de crecer en este medio, al igual que su mutante parental MPO413 ($\Delta cbrA$).

b) Ensayo de *swimming*

Se inoculó una colonia de cada una de las estirpes MPO475 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG), MPO476 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG1), MPO477 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG2), MPO484 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG3), MPO485 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG4) y MPO478 ($\Delta cbrA$ - Δ PcbrA) en una placa de medio mínimo con succinato con agar al 0,25% y se cuantificó su movilidad por *swimming* respecto a la estirpe silvestre (Figura 72). Todas las estirpes que contenían una mutación en la SD y/o también en alguno de los ATG (MPO475, MPO476, MPO477, MPO484, MPO485 y MPO478) mostraron una movilidad equivalente a la estirpe silvestre.

Solamente la estirpe MPO478 ($\Delta cbrA-\Delta PcbrA$) mostró una pequeña reducción en la movilidad (83%), que no se consideró significativa.

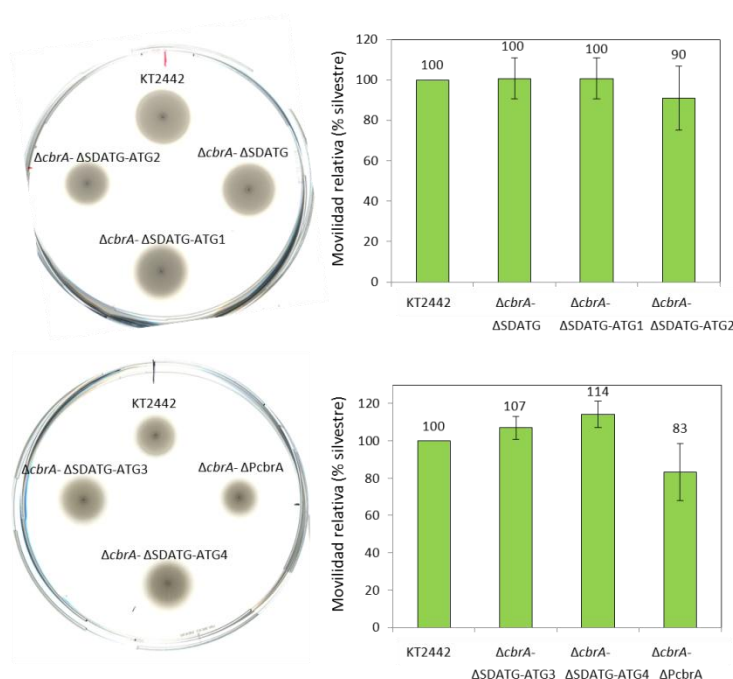


Figura 72. Ensayos de movilidad por swimming en agar blando. A la izquierda se muestra una réplica representativa en placas de agar al 0,25% con succinato como fuente de carbono de las estirpes silvestre KT2442, MPO475 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG$), MPO476 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG1$), MPO477 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG2$) (arriba) y KT2442, MPO484 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG3$), MPO485 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG4$) y MPO478 ($\Delta cbrA-\Delta PcbrA$) (abajo). A la derecha, representación gráfica de la movilidad de estas estirpes, medida como distancia entre el punto de inoculación y la migración final. Se muestra la movilidad relativa a la de la estirpe silvestre de un mínimo de 3 réplicas con sus respectivas desviaciones estándar.

c) Medida de la expresión de *crcZ*

Para cuantificar la capacidad de los mutantes en los ATGs y en el promotor de *cbrA* para activar la transcripción de *crcZ*, se les introdujo por conjugación el plásmido pMPO1316 que contiene la fusión transcripcional *PcrcZ::lacZ*. El resultado se muestra en la figura 73. La estirpe que carecía del ATG y la SD original y las que además contenían una mutación en los ATGs 1, 2, 3 y 4 (MPO475 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG$), MPO476 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG1$), MPO477 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG2$), MPO484 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG3$) y MPO485 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG4$)), fueron capaces de activar la transcripción de *crcZ* tan eficientemente como la estirpe silvestre. Sin embargo, en la estirpe MPO478 ($\Delta cbrA-$

ΔP_{cbrA}) los niveles de activación fueron de un 27,71 % en LB y un 26,98 % en succinato respecto a la estirpe silvestre, indicando una cierta actividad independiente del promotor silvestre de *cbrA*.

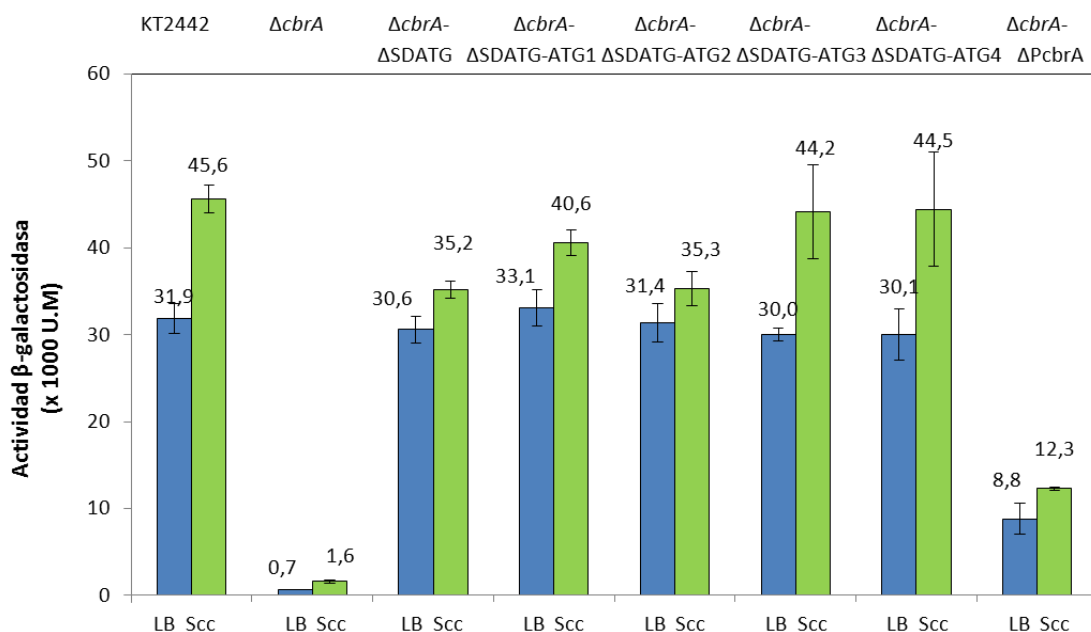


Figura 73. Análisis *in vivo* de la expresión de *crcZ* en las estirpes mutantes en la traducción de *CbrA*. Análisis de la actividad β -galactosidasa de la fusión transcripcional *crcZ::lacZ* (pMPO1316) en KT2442, MPO475 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG$), MPO476 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG1$), MPO477 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG2$), MPO484 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG3$), MPO485 ($\Delta cbrA-\Delta SDATG-ATG4$) y MPO478 ($\Delta cbrA-\Delta PcbrA$) en *P. putida* cultivada en LB (barras azules) y succinato (barras verdes). Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

Con los resultados obtenidos con todos los mutantes de *cbrA* se elaboró una tabla resumen en la que se indicó su capacidad de crecimiento en un medio mínimo con citrato, su movilidad relativa a la estirpe silvestre y los niveles de expresión de *crcZ* que alcanzaban (Tabla 7).

Tabla 7. Resumen de la caracterización fenotípica de los mutantes de *cbrA*.

Estirpe	Esquema de la inserción cromosómica	Cit	Mov	<i>crcZ</i>
MPO413 $\Delta cbrA$		-	+	-
MPO454 $\Delta cbrA$ - <i>cbrA</i>		++	++	++
MPO473 $\Delta cbrA$ -PAS		-	+	-
MPO474 $\Delta cbrA$ -TM2,5		-	++	+
MPO472 $\Delta cbrA$ -soluble		-	+	-
MPO475 $\Delta cbrA$ - Δ SDATG		++	++	++
MPO476 $\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG1		++	++	++
MPO477 $\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG2		++	++	++
MPO484 $\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG3		++	++	++
MPO485 $\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG4		++	++	++
MPO478 ($\Delta cbrA$ - Δ P <i>cbrA</i>)		-	++	+

Cit: crecimiento en un medio mínimo con citrato. Mov: movilidad relativa a la estirpe silvestre. *crcZ*: niveles de activación de la expresión de *crcZ*. ++ : fenotipo silvestre; + : fenotipo intermedio; -: fenotipo mutante.

4.4.5. Análisis de la región intergénica de *cbrA* de *P. putida*.

En la region intergénica de *cbrA* en *P. aeruginosa* PAO1 se encuentra anotada una pauta abierta de lectura que solapa parcialmente con el extremo 5' de *cbrA*. Esta pauta (*PA4724.1* en *P. aeruginosa*) codifica una proteína hipotética de tan solo 58

aminoácidos de función desconocida y su localización predicha según PSORTb V3.0. es en la membrana citoplasmática (Figura 74).

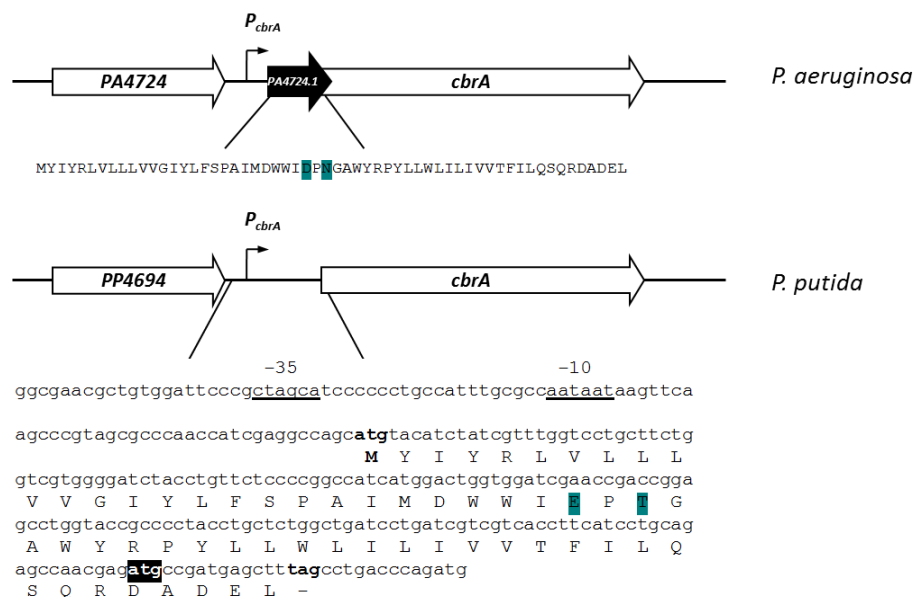


Figura 74. Contexto genómico de la región aguas arriba de *cbrA* en *P. aeruginosa* y *P. putida*. Contexto genómico de la proteína hipotética PA4724.1 en *P. aeruginosa* con su secuencia de aminoácidos (arriba) y esta misma región en *P. putida* junto con la secuencia de la región intergénica de *cbrA* con la secuencia de aminoácidos correspondientes al putativo gen PP4694.1. Subrayadas las posibles cajas -35 y -10 del promotor de *cbrA*; en negrita codones de inicio (atg) y stop (tag) de PP4694.1; en verde aminoácidos no conservados entre las dos especies; en negro, atg de *cbrA*.

En la web www.pseudomonas.com se encuentran anotados 41 ortólogos de esta proteína hipotética entre las diferentes *Pseudomonas*, en todos los casos su secuencia localizada aguas arriba y solapando con el inicio de traducción de CbrA. Una búsqueda global con la herramienta blastX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) permitió encontrar homólogos de PA4724.1 y se observó que presentaba una alta identidad (entre un 97 y un 50%) con proteínas de transporte del tipo MSF (*Major Facilitator Superfamily*). Este tipo de proteínas permiten el transporte de sustancias de un lado a otro de la membrana por lo que su función podría ser relevante para la señalización mediada por CbrA. La predicción dominios transmembrana en la secuencia de amino ácidos de PA4724.1 mediante SOSUI (http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/sosui_submit.html) reveló que efectivamente esta

proteína podría tener dos dominios transmembrana, lo cual favorece la hipótesis de que sea una proteína transportadora asociada a la membrana.

Al hacer una comparación de la secuencia de *PA4724.1* con la región intergénica de *cbrA* de *P. putida* mediante *blastn suite 2 sequences*, observamos que comparten un 88% de identidad en la secuencia de nucleótidos (155 de 177) y un 97% en la secuencia de aminoácidos (56 de 58) (Figura 74). Esto nos hace pensar que de existir esta pequeña proteína también debiera producirse en KT2442, aunque no se encuentra anotada (putativa PP4694.1). Ambos genes, *PA4724.1* en *P. aeruginosa* y *PP4694.1* en *P. putida*, se transcribirían desde el mismo promotor de *cbrA* pero, sin embargo, se traducen en una pauta de lectura diferente al ATG de inicio de *cbrA* y su extremo 3' que incluye el codón de *stop* está aguas abajo del inicio de *cbrA*. Este solapamiento en la secuencia podría estar indicando un acoplamiento traduccional entre ambas, lo que implica que la traducción de una sea necesaria para la traducción de la otra, aunque esta hipótesis debe ser demostrada empíricamente. Lo que sí parece cierto es que ambos genes forman un operón y se deben traducir a partir de un único mRNA.

Una observación interesante fue que todas las versiones de los mutantes de *cbrA* complementados con construcciones que contenían una delección del ATG y SD original, y las que además contenían mutaciones en los ATGs 1, 2, 3 y 4, (MPO475 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG), MPO476 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG1), MPO477 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG2), MPO484 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG3) y MPO485 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG-ATG4)), tenían fenotipos similares a la estirpe silvestre (Tabla 7) y habían sido clonadas de forma que su traducción estaba acoplada a la fase del producto de *PP4694.1*. Por lo tanto se estaban produciendo proteínas de fusión del producto de *PP4694.1* desde el ATG iniciador de éste con una proteína CbrA truncada, ya que se había eliminado la *Shine Dalgarno* y ATG original de *cbrA*. Por el contrario, esto no ocurría en los mutantes MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y MPO472 ($\Delta cbrA$ -soluble) (que además no presentaban todos los fenotipos silvestres, ver la tabla 7), en las que su traducción se encontraba en una pauta de lectura distinta al producto de *PP4694.1*, ni tampoco en el mutante MPO478 ($\Delta cbrA$ - Δ PcbrA) por el simple hecho de carecer de la secuencia promotora de *cbrA* que contiene a *PP4694.1*. El motivo por el que los mutantes MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y MPO478 ($\Delta cbrA$ - Δ PcbrA) presentan una actividad parcial, a pesar de no seguir la pauta de lectura del gen que lo precede, sigue siendo desconocido. Para saber si realmente alguno de los ATG alternativos dentro de los 2,5

dominios transmembrana es capaz de iniciar la traducción de una CbrA activa deberían de haberse realizado las mutaciones puntuales de estos en la construcción de MPO474 ($\Delta cbrA$ -TM2,5) y no en MPO475 ($\Delta cbrA$ - Δ SDATG), pues es en esta segunda construcción donde se generó una delección que acoplaba la fase de CbrA a la de *PP4694.1*. El mutante MPO473 ($\Delta cbrA$ -PAS), conserva toda la secuencia promotora (que contiene a *PP4694.1*) y codificante de *cbrA* como en la estirpe MPO454 ($\Delta cbrA$ -*cbrA*) a excepción del dominio PAS, demostrando por tanto la importancia del dominio PAS en la funcionalidad de *cbrA*.

4.4.6. Caracterización de la señal activadora del sistema CbrAB en *P. putida* KT2442 y *P. aeruginosa* PAO1.

Se han realizado numerosos estudios para intentar identificar los posibles genes y procesos regulados por el sistema de dos componentes CbrAB pero sin embargo, existe poca información relacionada con la naturaleza de la posible señal que pudiera estar detectando la proteína sensora CbrA y su mecanismo de acción.

Además, en la bibliografía se habían descrito de forma independiente para *P. putida* y *P. aeruginosa*, los niveles de inducción de *crcZ* en condiciones distintas de represión catabólica. En (Sonnleitner et al., 2009) comparan los niveles de actividad β -galactosidasa de una fusión *PcrcZ::lacZ* en *P. aeruginosa* en tres medios mínimos con diferentes fuentes de carbono en fase estacionaria ($A_{600}= 1,5$), alcanzando los máximos niveles de inducción en manitol, después en glucosa y por último en succinato. Por otra parte, se ha descrito en *P. putida* que los niveles máximos de expresión de *crcZ* se daban en la fase exponencial ($A_{600}= 0,6$) en citrato o en succinato en comparación con los bajos niveles obtenidos en LB (Moreno et al., 2012) (Garcia-Maurino et al., 2013). Sin embargo, estos altos niveles eran comparables a los que se obtenían en el medio rico LB en fase estacionaria ($A_{600}= 2,2$) (Moreno et al., 2012). Tomando estos resultados en su conjunto, no quedaba claro si una fuente de carbono común como el succinato podía actuar como fuente represora para *P. aeruginosa* y como fuente no represora para *P. putida*. Si esto fuese así, se podría interpretar que la señal activadora en ambos organismos era distinta, lo cual era sorprendente, dada la alta identidad observada para CbrA en ambos organismos (un 80% de identidad en la secuencia de aminoácidos). En este contexto, se estableció una colaboración con el laboratorio de la Dra. Karine Lapouge (UNIL, Lausanne, Suiza), en la que se planteó realizar una caracterización en paralelo de las

condiciones de activación del sistema CbrAB. Asimismo, se pretendía establecer la naturaleza de la señal activadora del sistema en las dos especies, y para ello se optó por una aproximación global en la que se estudiaran el metaboloma de ambos en las correspondientes condiciones determinadas en el objetivo anterior.

Las fases de esta colaboración se resumen en:

- i. Determinación de las condiciones de activación de *crcZ* en *P. putida* y *P. aeruginosa*.
- ii. Intercambio de las proteínas CbrA entre *P. putida* y *P. aeruginosa*.
- iii. Análisis del metaboloma de *P. putida* y *P. aeruginosa* en condiciones de represión catabólica y de desrepresión.

4.4.6.1. Determinación de las condiciones de represión catabólica y máximos niveles de activación por CbrB.

La parte que se describe a continuación en esta tesis la desarrolló la doctoranda en el laboratorio de Karine Lapouge (Lausanne, Suiza) como parte de una estancia de tres meses en el mismo.

Para determinar una posible señal reconocida por CbrA, era necesario en primer lugar conocer las condiciones de máxima inducción del sistema en *P. putida* y *P. aeruginosa*, medido como capacidad para activar la transcripción de *crcZ*. Para ello se empleó una fusión transcripcional *PcrcZ::gfp* y se analizó la fluorescencia cuando se introducía en *P. putida* (S. Muñoz) y *P. aeruginosa* (Martina Valentini) cultivadas en un medio mínimo BSM suplementado con microelementos y con 38 fuentes de carbono distintas a una concentración de 40mM, en placas de 24 multipocillos, donde la aireación era suficiente para sustentar el crecimiento. Las fuentes de carbono analizadas fueron las siguientes: glucosa, fumarato, succinato, malato, glicerol, citrato, glutamato, oxalato, malonato, piruvato, L-Histidina, L-Aspártico, L-Treonina, L-Serina, L-Glutamina, L-Prolina, Glicina, L-Alanina, L-Valina, L-Metionina, L-Isoleucina, L-Leucina, L-Tirosina, L-ornitina, oxalacetato, cisteína, fenilalanina, lisina, triptófano, fructosa, lactato, acetato, lactamida, galactosa, sacarosa, arginina, manitol y LB. El medio rico LB (usado tradicionalmente como condiciones de represión catabólica en *P. putida*) no era un buen candidato para este ensayo puesto que debido a su complejidad podía provocar interferencias en el

análisis posterior de las muestras, pero se usó como control de condiciones de represión catabólica. Para la cuantificación de *crcZ*, se introdujo por electroporación el plásmido pME9824 (que contenía la secuencia promotora de *crcZ* de *P. aeruginosa* fusionada a *gfp*) o pPROBE-TT' (plásmido vacío), que insertaba la fusión transcripcional en el sitio Tn7 del cromosoma. Con esta inserción cromosómica se limitaba el número de copias de la fusión lo que resulta en unos niveles de producción de *gfp* menos tóxicos para el crecimiento de la bacteria. Se monitorizó la fluorescencia emitida durante 12 horas como se detalla en materiales y métodos. En la figura 75 A se muestra la expresión de *crcZ* para las fuentes de carbono en las que el crecimiento tras 8 horas superó una A_{600} de 0,1. Los resultados obtenidos nos permitieron establecer una jerarquía en la capacidad de activar *crcZ* en función de la fuente de carbono y las condiciones de represión catabólica (Figura 755, B). Hay que resaltar que los niveles más altos de activación corresponden a aquellas fuentes de carbono en las que la bacteria mostró un crecimiento más lento. Los medios con niveles más bajos de expresión resultaron ser el LB, BSM con glucosa, succinato, malato y fumarato mientras que el medio con niveles más altos de expresión fue el suplementado con oxalacetato, otro intermediario C_4 del ciclo de Krebs. Estos resultados fueron similares a los obtenidos para la estirpe *P. aeruginosa* aunque con sutiles diferencias (resultados sin publicar, tesis doctoral de Martina Valentini, Lausanne). En *P. aeruginosa*, los medios más represores resultaron ser LB, BSM con succinato, malato y fumarato y, de igual forma, el medio menos represor, con unos niveles muy elevados de activación de *PcrcZ*, el suplementado con oxalacetato.

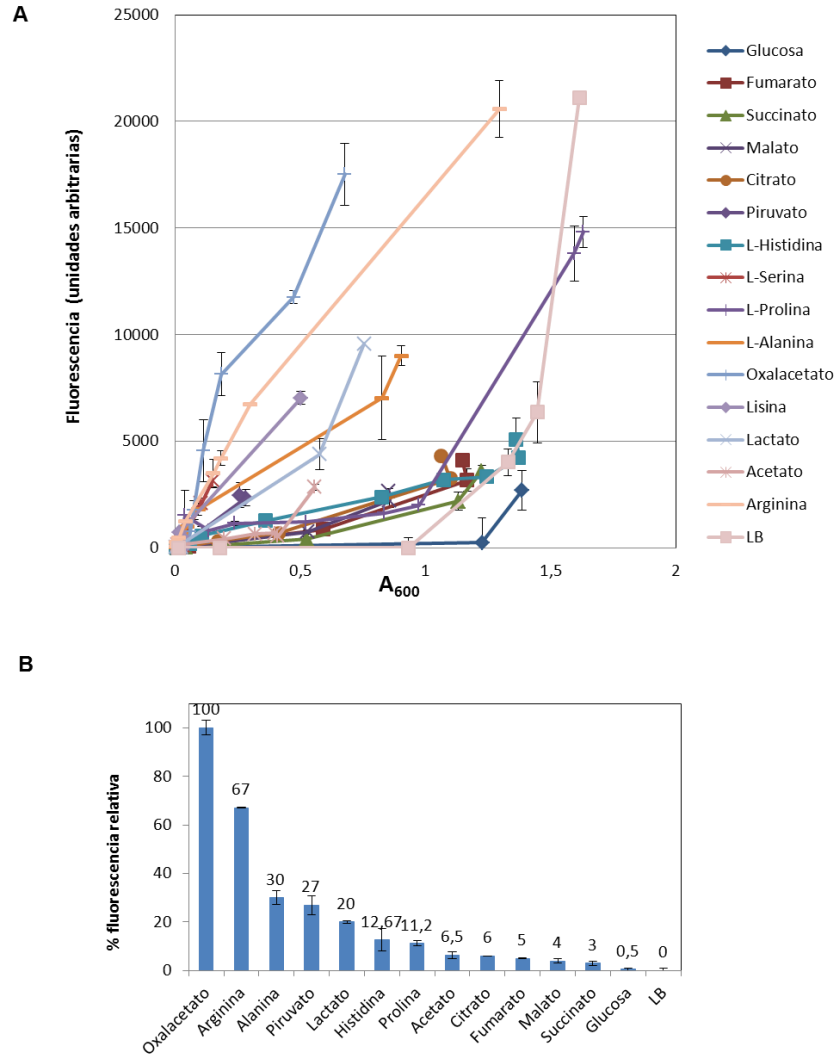


Figura 75. Análisis *in vivo* de la expresión de *crcZ* en diferentes fuentes de carbono. A)

Niveles de expresión de una fusión cromosómica *crcZ::gfp* (pME9824) en la estirpe silvestre de *P. putida* creciendo en diferentes fuentes de carbono en placas de 24 pocillos. Se muestran los niveles de fluorescencia en unidades arbitrarias corregidos por los niveles obtenidos con plásmido vacío (pPROBE-TT'). Los valores y las barras de error son la media y la desviación estándar de la fluorescencia de dos cultivos independientes respecto a la absorbancia a 600 nM. **B)** Representación del porcentaje de los niveles de inducción de *crcZ* en diferentes fuentes de carbono relativos al los niveles en oxalacetato cuando los cultivos se encontraban a una OD de 0,3.

Dado que la tasa de crecimiento podía ser un factor limitante en la actividad de CbrA, se validaron estos resultados como medida de la fusión *crcZ::gfp* en la estirpe

silvestre creciendo en cultivo líquido de 20 mL de medio mínimo suplementado con fumarato, succinato u oxaloacetato 40mM como única fuente de carbono, en matraces de 100 mL (Figura 76. En este caso, se repitió el patrón de expresión, validando así los resultados de activación determinados en placas multipocillo.

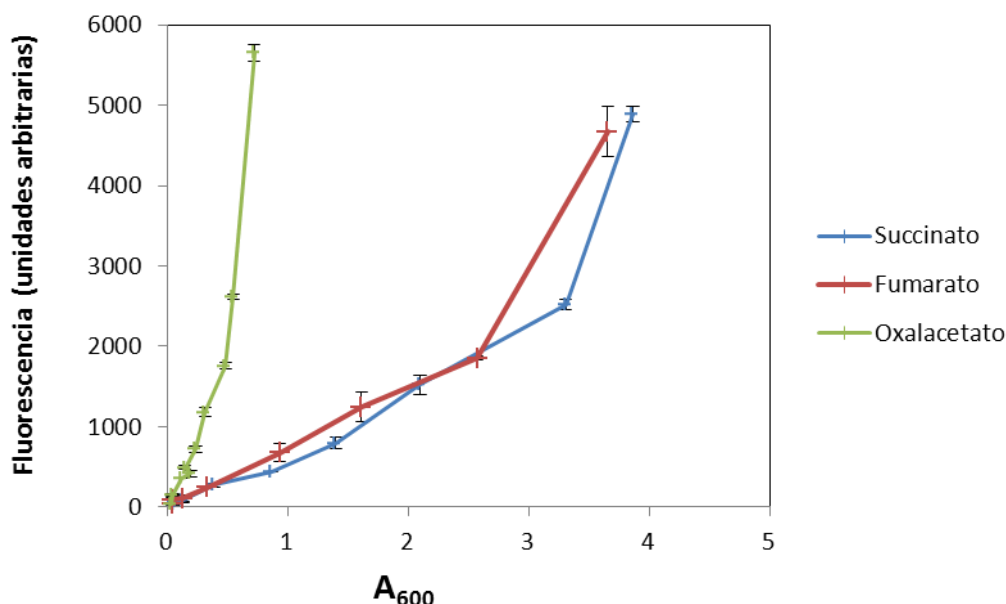


Figura 76. Expresión de una fusión cromosómica *crcZ::gfp* (pME9824) en la estirpe silvestre de *P. putida* creciendo en succinato, fumarato y oxaloacetato como fuentes de carbono en erlenmeyer. Se muestran los niveles de fluorescencia en unidades arbitrarias corregidos por los niveles basales alcanzados con el plásmido vacío pPROBE-TT'. Los valores son la media y la desviación estándar de dos cultivos independientes respecto a la absorbancia a 600 nM.

Los resultados que se muestran en las figuras 75 y 76 fueron equivalentes a los obtenidos para la estirpe *P. aeruginosa*, demostrando por tanto que ambas estirpes activan la expresión de *crcZ* en respuesta a las mismas condiciones de represión catabólica y por tanto posiblemente reconocen una misma señal inductora. Lo descrito en la bibliografía (Sonnleitner et al., 2009, Moreno et al., 2012, Garcia-Maurino et al., 2013) se ajusta perfectamente a los resultados obtenidos y hace patente la importancia de comparar ambas estirpes en unas mismas condiciones para que el efecto en activación en cada condición sea comparable.

4.4.6.2. Intercambio de las proteínas CbrA entre *P. putida* y *P. aeruginosa*.

Los datos de activación de *crcZ* en *P. putida* y *P. aeruginosa* mostraron que ambas especies responden de igual forma a las condiciones de represión catabólica y que por lo tanto la señal activadora podría ser la misma para ambas especies. Para validar esta hipótesis, se procedió a intercambiar la proteína CbrA entre ambas especies. Para ello, se introdujo la secuencia de *cbrA* bajo su propio promotor de *P. putida* (pMPO1317, *cbrA* Pp) y *P. aeruginosa* (pMPO430, *cbrA* Pa) en el vector pME6182 y se procedió a su electroporación en los fondos $\Delta cbrA$ (MPO413 y MPO480) para integrarlo en el sitio Tn7 del cromosoma, y así estudiar la complementación de la función de cada CbrA. Además, como control, se introdujo en todas las estirpes el vector vacío. Las estirpes resultantes en *P. putida* fueron: MPO451 (KT2442-pME6182), MPO453 (MPO413-pME6182), MPO454 (MPO413-*cbrA* Pp) y MPO483 (MPO413-*cbrA* Pa); y en *P. aeruginosa*: MPO464 (PAO1-pME6182), MPO479 (MPO480- pME6182), MPO482 (MPO480-*cbrA* Pp) y MPO481 (MPO480- *cbrA* Pa).

A continuación se realizó una caracterización fenotípica de las distintas estirpes según su capacidad de crecer en un medio mínimo con citrato como fuente de carbono, y la capacidad de activación de una fusión transcripcional *crcZ::lacZ*.

a) Análisis del crecimiento en citrato

En la figura 77 se muestra el crecimiento de las estirpes de *P. putida* complementadas con su propia CbrA, y la de *P. aeruginosa* a lo largo del tiempo. Los datos muestran que la proteína CbrA de *P. aeruginosa* es capaz de complementar el crecimiento en citrato de la estirpe $\Delta cbrA$ de *P. putida* (MPO413) tan eficientemente como con la suya propia. Como control se utilizó una estirpe a la que se le había integrado el plásmido pME6182 en el sitio Tn7 del cromosoma. En el caso de *P. aeruginosa*, el crecimiento en citrato también fue complementado al 100% con el CbrA de *P. putida* (datos no mostrados).

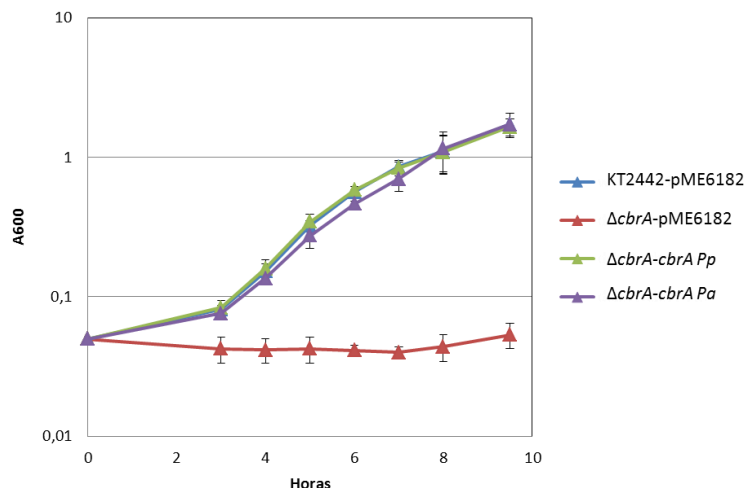


Figura 77. Crecimiento en citrato de la estirpe mutante MPO413 complementada con *cbrA* de *P. putida* y *P. aeruginosa*. Curva de crecimiento medido como aumento de la densidad óptica a 600 nm (A_{600}) en función del tiempo para las estirpes MPO451 (KT2442-pME6182), MPO453 (MPO413-pME6182), MPO454 (MPO413-*cbrA* Pp) y MPO483 (MPO413-*cbrA* Pa). Se cultivaron en un medio mínimo con citrato 40 mM como fuente de carbono. Los valores son la media de tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

b) Medida de la expresión de *crcZ*

Se analizó además la capacidad de activar la expresión de *crcZ* para las diferentes estirpes complementadas con las distintas versiones de *cbrA* en un medio BSM suplementado con fumarato. El fumarato es una fuente de carbono C_4 con la cual se obtuvieron niveles similares de activación de *crcZ* que con el succinato (Figura 76) y se utilizó en lugar de esta en los sucesivos ensayos para poder comparar con los ensayos realizados previamente en mutantes en el sistema Dct de *P. aeruginosa* creciendo en fumarato (Valentini *et al.*, 2011) Para ello, a las estirpes anteriormente descritas MPO451, MPO453, MPO454, MPO483, MPO464, MPO479, MPO482 y MPO481 se les introdujo por conjugación el plásmido pMPO1316 que contenía la fusión transcripcional *P_{crcZ}::lacZ* de *P. putida*. Se cultivaron estas estirpes en un medio mínimo BSM con fumarato como fuente de carbono y se midió su actividad β -galactosidasa en fase exponencial temprana ($A_{600}=0,3$). Como se muestra en la figura 78, la expresión de la estirpe MPO413 ($\Delta cbrA$) complementada con las proteínas CbrA de *P. putida* y *P. aeruginosa* alcanzaron niveles elevados (83,3 % y 85,4 % respectivamente) y similares a los de la estirpe silvestre.

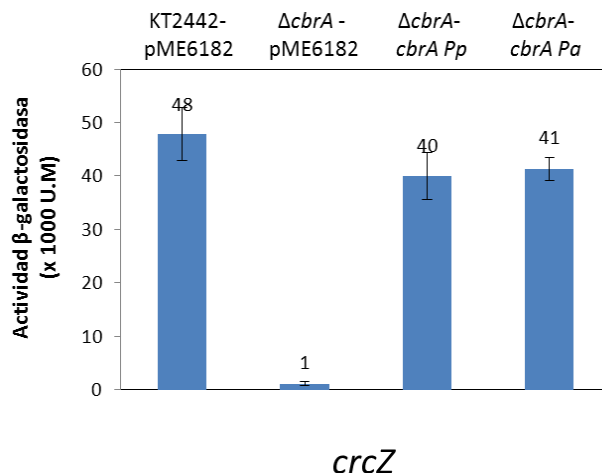


Figura 78. Análisis in vivo de la expresión de *crcZ* en la estirpe mutante MPO413 complementada con *cbrA* de *P. putida* y *P. aeruginosa*. Actividad β-galactosidasa de la región promotora de *crcZ* en MPO451 (KT2442-pME6182), MPO453 (MPO413-pME6182), MPO454 (MPO413-*cbrA* Pp) y MPO483 (MPO413-*cbrA* Pa) en *P. putida* cultivada en un medio mínimo BSM con fumarato 40 mM como fuente de carbono. Los valores representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error la desviación estándar de las medias.

Los datos de activación de *crcZ* obtenidos en *P. aeruginosa* también fueron equivalentes a los de la estirpe silvestre, mostrando de nuevo una eficiente complementación al intercambiar las proteínas entre ambas especies (datos no mostrados)

Los estudios de complementación del crecimiento en citrato y de activación de *crcZ*, permiten concluir que las proteínas CbrA de *P. putida* y *P. aeruginosa* son perfectamente intercambiables entre las dos especies y complementan funcionalmente con gran eficiencia a las estirpes Δ*cbrA* MPO413 y MPO480.

4.4.6.3. Análisis del metaboloma de *P. aeruginosa*.

El fenómeno de CCR en *Pseudomonas* está regulado por la activación del sistema de dos componentes CbrA/B que induce la expresión de los pequeños RNAs *crcZ*(Y) los cuales actúan como reguladores post-transcripcionales del metabolismo de la bacteria y procesos de virulencia. La señal que activa el sistema CbrA/B/CrcZ(Y) no ha sido descrita hasta la fecha pero, sin embargo, se piensa que el fenómeno de CCR podría responder al

estado energético celular interno más que a señales externas del medio dado que está directamente relacionado con el metabolismo del carbono de la bacteria. Aunque la premisa inicial era que *P. putida* y *P. aeruginosa* tenían un comportamiento diferente en cuanto a la activación del sistema CbrAB (Garcia-Maurino et al., 2013, Moreno et al., 2012, Sonnleitner et al., 2009), los estudios en paralelo llevados a cabo en los apartados anteriores mostraron que ambas estirpes parecían detectar una misma señal y que las diferencias en la activación del sistema Cbr no eran tales, sino la consecuencia de una distinta aproximación experimental en los estudios de activación del sistema en las dos especies. Por esta razón se procedió a realizar un análisis del metaboloma en un único fondo genético (*P. aeruginosa*) como sistema modelo, y los resultados podrían extrapolarse a *P. putida*.

El objetivo del análisis metabolómico era intentar identificar algún metabolito o posible compuesto activador del sistema CbrAB, que se acumulase en una condición específica de desrepresión catabólica en comparación con la condición en la que el sistema se encontrase reprimido (y por tanto el sistema CbrAB inactivo). Por esta razón se escogieron para realizar en el ensayo, dos condiciones en las que la diferencia en la activación del sistema (expresión de *crcZ*) fuese máxima. Se analizó el perfil metabolómico de la estirpe PAO1 en fase exponencial en dos fuentes de carbono diferentes; fumarato y oxalacetato. El fumarato, es una fuente de carbono que, como el succinato y el citrato, puede ser utilizada por diversas especies de *Pseudomonas* y es una fuente preferencial para *P. aeruginosa*. El oxalacetato es una fuente de carbono no preferencial (con una tasa de crecimiento $\mu = 3,5 \text{ h}^{-1}$ comparada con $\mu = 1,5$ en fumarato) (Figura 79) y además es en la que se alcanzaron los máximos niveles de inducción de *crcZ* de todos los medios analizados (Figura 75). El fumarato se suministró a una baja concentración (5 mM) en presencia de oxalacetato 40 mM. Se recogieron dos muestras de este cultivo, una tras 2,5 horas donde el fumarato no se ha consumido aun y está siendo utilizado como fuente de carbono (condiciones de CCR, punto A) y una segunda muestra tras 10 horas de cultivo donde el oxalacetato es la única fuente de carbono presente en el medio (punto B). Se observó un crecimiento diáuxico, con una tasa de crecimiento inicial rápida por consumo de fumarato y una vez agotado éste, otra tasa más lenta por consumo de oxalacetato (Figura 79). Se recogió otra muestra de PAO1 creciendo en medio mínimo BSM suplementado únicamente con oxalacetato 40 mM en fase exponencial media ($A_{600}=0,3$) (punto C en la Figura 79). De cada punto se tomaron

dos réplicas, obteniéndose por tanto 6 muestras: A1, A2, B1, B2, C1 y C2. Finalmente, se extrajeron los metabolitos y se analizaron y procesaron en la empresa Human Metabolome Technologies HMT (Japón). Los niveles de activación de *crcZ* reflejaron fielmente el estado de CCR, siendo el nivel de expresión de *crcZ* 4,12 veces superiores en el punto C en comparación con el A. Estos niveles se cuantificaron mediante RT-qPCR usando los oligonucleótidos *crcZ*49_PAO/*crcZ*99-2Q (Figura 79).

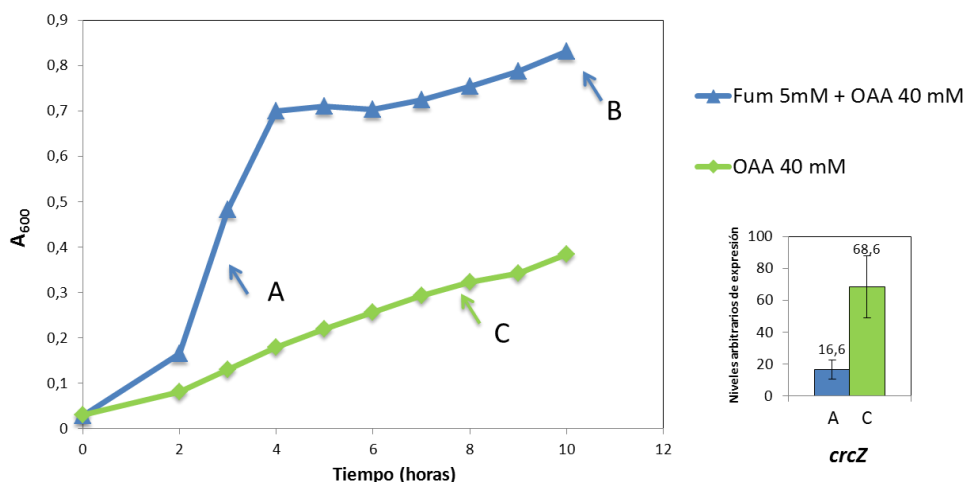


Figura 79. Curva de crecimiento en fumarato y oxalacetato y niveles de expresión de *crcZ* en estos medios. A la izquierda, crecimiento de la estirpe silvestre de *P. aeruginosa* PAO1 en un medio mínimo BSM con oxalacetato 40 mM (en verde) y en BSM con fumarato 5 mM y oxalacetato 40 mM (en azul). Los puntos en los que se tomaron las muestras del metaboloma se indican con flechas (A, B y C). A la derecha, cuantificación mediante RT-qPCR de los transcritos de *crcZ* en los puntos A y C. Los valores mostrados son la media de tres ensayos independientes y las barras de error indican la desviación estándar de las medias.

El análisis de los metabolitos detectados en condiciones de CCR (punto A) y no CCR (puntos B y C) revelaron información interesante referente al estado fisiológico de la bacteria (Anexo 6). La principal diferencia detectada en la abundancia de todos los metabolitos analizados, fue la gran acumulación de glutamato, que fue de 2 órdenes de magnitud superior en las condiciones de limitación de carbono (no CCR), (Figura 80). Dado que las reservas intracelulares de glutamina muestran el nitrógeno disponible para la bacteria mientras que las de 2-OG son indicativas de limitación de nitrógeno y que el balance C/N ha sido propuesto como una señal de activación del sistema CbrAB, se

evaluaron las cantidades relativas de estos metabolitos en los puntos A, B y C. Las cantidades de 2-OG y Gln en la condición A (crecimiento en fumarato) se encontraron por debajo de los límites de detección experimentales, aunque su acumulación fue evidente en las otras condiciones. La relación 2-OG/Gln/ fue de 0.5-0.67 para la condición B pero alcanzó 0.14 veces en la condición C, indicando una mayor limitación de carbono o exceso de nitrógeno ya que únicamente alcanzó una A_{600} de 0,3 después de 7 horas de incubación (Figura 80).

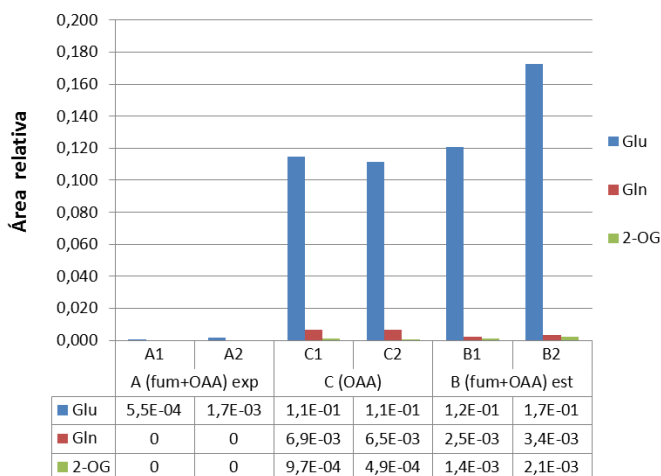


Figura 80. Cuantificación de metabolitos para calcular la relación C/N. Se muestra la cuantificación de los metabolitos glutamato (glu), glutamina (gln) y 2-oxoglutarato (2-OG) en las condiciones de cultivo A (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase exponencial), C (crecimiento en oxalacetato) y B (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase estacionaria). Se realizaron dos réplicas biológicas (1 y 2) de cada condición (A, B y C).

Además, fue llamativo que los niveles de 2-OG y citrato fueran superiores en las condiciones B y C (no CCR), mientras que los intermediarios del TCA posteriores al 2-OG en el ciclo fueran bajos (Figura 81).

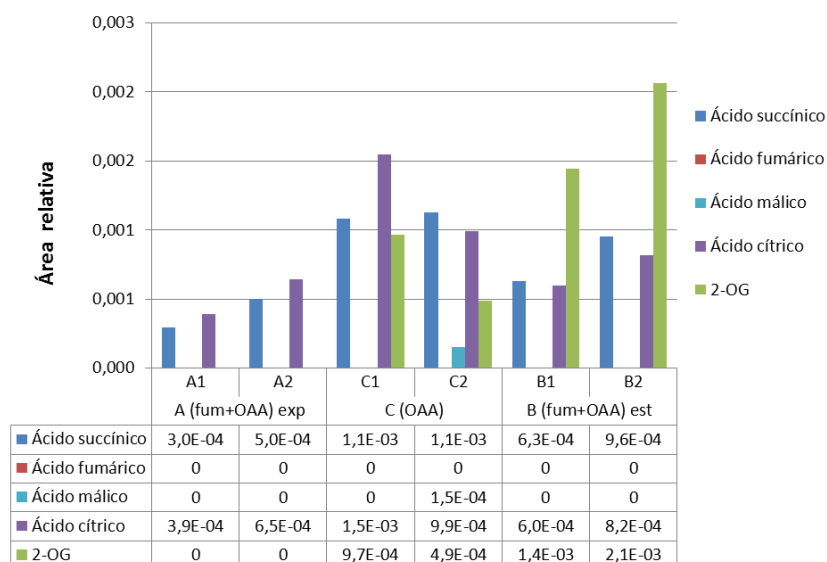


Figura 81. Cuantificación de metabolitos del ciclo TCA. Se muestra la cuantificación de los ácidos succínico, fumárico, málico, cítrico y 2-oxoglutarato (2-OG) en las condiciones de cultivo A (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase exponencial), C (crecimiento en oxalacetato) y B (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase estacionaria). Se realizaron dos réplicas biológicas (1 y 2) de cada condición (A, B y C).

La mayoría de sustancias que presentaron un incremento en las condiciones de desrepresión catabólica fueron a su vez aminoácidos o metabolitos relacionados, principalmente lisina, glutamina, alanina, glicerol, valina y aspártico. El aumento de estos compuestos fue aún más evidente en la condición C. El único compuesto que presentó una mayor abundancia en la condición A (CCR) fue GABA (Figura 82).

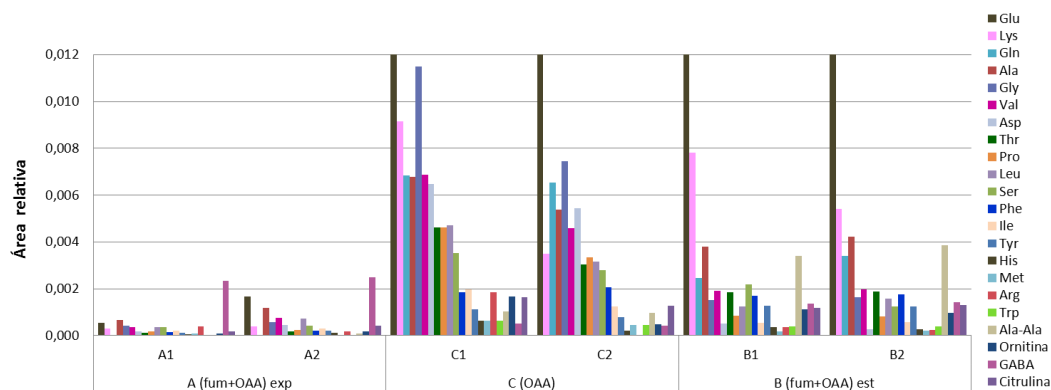


Figura 82. Cuantificación de los aminoácidos principales. Se muestra la cuantificación de los aminoácidos más representativos en las condiciones de cultivo A (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase exponencial), C (crecimiento en oxalacetato) y B (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase estacionaria). Se realizaron dos réplicas biológicas (1 y 2) de cada condición (A, B y C).

El contenido de energía medido como la relación ATP/ADP mostró un valor superior en la condición de limitación de carbono ($1,21\pm0,07$ and $0,93\pm0,03$, para C y B respectivamente) que en la condición A, ($0,43\pm0,07$), mostrando una mayor disponibilidad de ATP en las condiciones de mayor limitación de carbono (Figura 83).

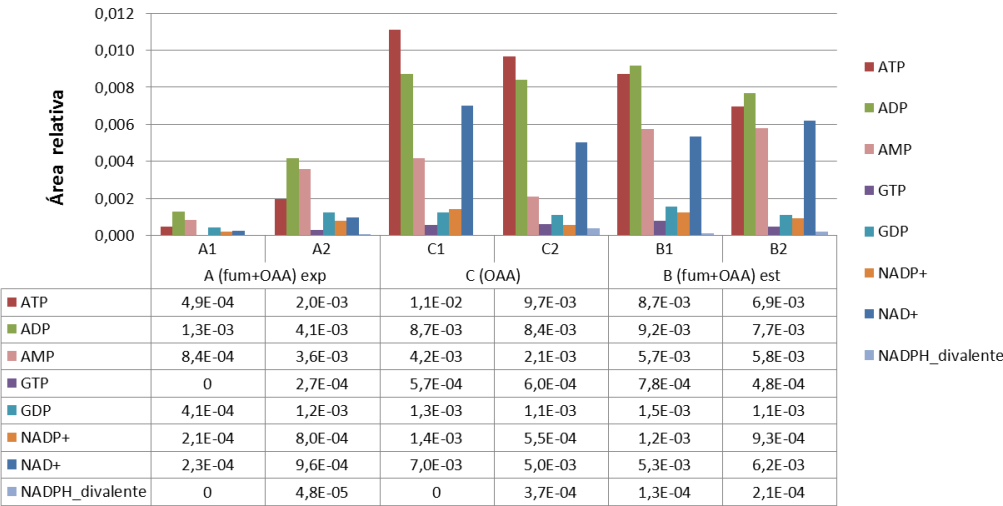


Figura 83. Cuantificación de metabolitos para calcular el balance de energía. Se muestra la cuantificación de los metabolitos relacionados con el balance energético celular en las condiciones de cultivo A (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase exponencial), C (crecimiento en oxalacetato) y B (crecimiento en fumarato y oxalacetato en fase estacionaria). Se realizaron dos réplicas biológicas (1 y 2) de cada condición (A, B y C).

5. DISCUSIÓN

El sistema de dos componentes CbrAB ha sido descrito en diversas especies del género *Pseudomonas* como un regulador del metabolismo y transporte de determinados aminoácidos, como la arginina (Nishijyo et al., 2001, Li & Lu, 2007), histidina (Zhang & Rainey, 2007, Zhang & Rainey, 2008) o la prolina (Nishijyo et al., 2001, Amador et al., 2010). En nuestro laboratorio, se ha estudiado el papel de CbrB como regulador global que no sólo controla la asimilación de ciertos aminoácidos como fuente de carbono, sino también otros procesos de especial relevancia, que podrían permitirle a la bacteria adaptarse a condiciones ambientales cambiantes. Mediante una aproximación global de expresión génica, se identificaron potenciales genes diana cuya regulación dependía de CbrB (Amador et al., 2010). En esta tesis se ha caracterizado con más detalle el mecanismo de regulación dependiente de CbrB utilizando los promotores diana de los pequeños RNAs *crcZ* y *crcY*, así como de un tercer gen identificado mediante ChIP-seq. A su vez, se ha caracterizado el papel de la histidina quinasa CbrA en esta regulación y se ha analizado qué metabolitos podrían constituir una señal a la que el sistema regulador responda.

5.1. Mecanismos de regulación mediados por CbrB en *Pseudomonas putida*.

5.1.1. Mecanismo de activación transcripcional por CbrB.

El trabajo realizado en esta tesis ha permitido esclarecer los elementos reguladores y los mecanismos implicados en la activación de tres genes, dos de ellos implicados en procesos de represión catabólica (*crcZ* y *crcY*), y un tercero (*PP2810*) con función por determinar, aunque de su secuencia y organización transcripcional se deduce que podría estar implicado en procesos de transporte. Mediante fusiones transcripcionales de estos genes a *lacZ*, se ha demostrado que la transcripción de los tres genes se encuentra activada por CbrB y además que los niveles de expresión dependen de las condiciones en las que se encuentra la bacteria, siendo más elevados en un medio libre de represión catabólica en comparación con un medio rico. En el caso de *crcZ* y *crcY*, esta regulación está directamente relacionada con la actividad de Crc, proteína implicada en represión catabólica, como se discutirá más adelante.

CbrB es un activador de promotores dependientes de σ^N y se han localizado secuencias de este tipo tanto en *crcZ* y *crcY* como en el gen *PP2810*, localizadas además a una distancia adecuada aguas arriba del sitio de iniciación de la transcripción.

CbrB se une a sitios localizados a menos 100 pb del sitio de inicio de la transcripción en *crcZ* y *crcY* (Figura 28) y además activa de forma directa la transcripción de estos genes mediante una forma de RNA polimerasa que contiene el factor σ^N (Figura 37). Como ocurre en otros promotores dependientes de σ^N , la activación transcripcional de *crcZ* y *crcY* es ayudada por el coactivador IHF. Este factor se une con alta afinidad a una secuencia conservada localizada aguas arriba del sitio de unión del factor σ^N de la RNA polimerasa, e induce un doblez en el DNA que asiste la interacción entre la RNA polimerasa y el activador transcripcional tipo EBP (*Enhancer Binding Protein*), promoviendo la formación del complejo abierto. Esto garantiza además un grado de fidelidad muy alto en el proceso de activación de la transcripción y una diferencia mayor entre los niveles de expresión basales e inducidos (Hoover *et al.*, 1990, Santero *et al.*, 1992, Perez-Martin & De Lorenzo, 1995, Wassem *et al.*, 2000). Asimismo, en la región promotora de *PP2810* existe una secuencia rica en AT (AAATAAATTCAACTCGCTGATTT) que también podría suponer un sitio de unión de IHF. En resumen, tanto *crcZ* como *crcY* se transcriben desde promotores dependientes de σ^N convencionales, activados por la proteína tipo EBP CbrB que se une en las posiciones desde -100 a -160, y su completa activación requiere el coactivador IHF, que se une a la región promotora en las posiciones -30 a -70 (Figura 36). Por consiguiente, como en otros promotores con características similares, la transcripción desde estos promotores tipo σ^N es estrictamente dependiente del activador transcripcional CbrB.

La secuencia de unión predicha inicialmente para CbrB en el promotor de *crcZ* en *P. aeruginosa* es la secuencia palindrómica TGTTAC- N₁₄- GTAACA (Abdou *et al.*, 2011), denominados subsitios F y R en esta tesis. Los análisis de *footprint* en *P. putida* para las 3 regiones promotoras analizadas *crcZ*, *crcY* y *PP2810*, han permitido determinar que aunque CbrB reconoce una secuencia relacionada, en realidad se une a una región más extensa a la secuencia descrita arriba. En las tres regiones promotoras se identificó un subsitio F y al menos dos subsitios R, si bien la estructura global no era la misma en las tres regiones promotoras.

En *crcZ* se observa una estructura F1-N₁₄-R1-N₁₆-R2 con una sustitución en R2. Esta estructura y su espaciamiento está conservada en otras estirpes de *Pseudomonas* excepto en *P. stutzeri* A1501, que tiene un espaciamiento F1-N₁₆-R1- N₁₆-R2 (Figura 29). Los ensayos mutacionales realizados en los subsitios F1, R1 y R2 en *P. putida* mostraron

que los 3 subsitios son importantes porque una mutación en cualquiera de los subsitios de *PcrcZ* era suficiente para afectar considerablemente la activación de este promotor (Figura 32). El menor efecto se observa con la mutación en la secuencia central R1, mientras que el mayor efecto se aprecia con la mutación en R2, precisamente la secuencia que ya tenía un nucleótido cambiado respecto al consenso y que no se había descrito previamente. Estos datos indican que CbrB tiene al menos 3 puntos de anclaje posible en la región promotora y sugieren que el anclaje a dos de ellos es suficiente para permitir niveles elevados de transcripción de *crcZ*.

La región de unión de CbrB en *PcrcY* de *P. putida* comprende un subsitio F1 aguas arriba y un subsitio R2 aguas abajo con un residuo no conservado localizado en las mismas posiciones relativas que en *PcrcZ*. Además, se encuentran otros posibles subsitios R, con solo 3 residuos conservados (R1), y otro R' perfecto, localizado entre R1 y R2, generando una estructura más compleja F1-N₁₄-R1-N₉-R'-N₂-R2 (Figura 29). Aunque el subsitio R1 está localizado en la misma posición que en *PcrcZ*, este subsitio está degenerado en *P. putida* y no se conserva entre diferentes especies de *Pseudomonas*, lo cual sugiere que no es importante para la activación. Por el contrario, la secuencia R' se ajusta perfectamente a la secuencia R canónica, sin embargo, su posición relativa no encaja con la de ningún otro subsitio. Ninguna de las mutaciones en R1 o R' tuvieron un efecto significativo sobre los niveles de expresión de *crcY*, lo que indica que estos sitios son perfectamente dispensables. Por el contrario, estos análisis pusieron de manifiesto la gran importancia de los sitios F1 y R2 para activar la transcripción. Según estos datos, CbrB activa *PcrcY* uniéndose a los subsitios en los extremos de la región protegida, de una forma similar a la que se ha propuesto para el mutante en R1 de *PcrcZ* de *P. aeruginosa*, que es el mutante con mayor nivel de expresión de *crcZ*. Desde este punto de vista, quizá hubiera sido posible mejorar los niveles de *crcY*, que son menores que los de *crcZ*, si hubiésemos mutado los residuos no conservados de su R1 hacia la secuencia R1 canónica.

En el caso de la región promotora de *PP2810* se han identificado cuatro posibles subsitios de unión de CbrB (F', F1, R1 y R2), similares a los correspondientes subsitios de *crcZ* y *crcY* (Figura 58). Los ensayos de unión y activación mostraron que el subsitio F', que se encuentra aguas arriba y a una distancia considerable (150 nt) de los otros subsitios, es dispensable tanto para la unión como para la activación mediada por CbrB,

luego este promotor también tiene una estructura de subsitios similar, F1-N₁₃-R1-N₁₉-R2, aunque el espaciamiento varíe. En este caso, el análisis mutacional indicó que el primer subsitio F1, que ya tenía dos sustituciones respecto a la secuencia canónica, era irrelevante para la activación de este promotor, mientras que la mutación en R2, también con degeneraciones de la secuencia, tenía un efecto parcial y la mutación en el subsitio central R1 era la que presentaba el efecto más dramático sobre los niveles de expresión (Figura 54). La comparación de la secuencia promotora de *PP2810* en diferentes *Pseudomonas* señaló que la conservación en la estructura F1-R1-R2 era mucho más laxa para este gen, pero sin embargo confirmó de nuevo la importancia del subsitio R1 al ser el más conservado entre las especies que presentan un ortólogo de *PP2810* de *P. putida* y *P. aeruginosa* (Figura 55).

El análisis de la regulación de los genes *crcZ*, *crcY* y *PP2810* mostró que cada región promotora tiene una estructura similar con tres subsitios, F1-R1-R2, separados por una distancia relativamente flexible, en torno a 13-14 nt entre F1 y R1 y de entre 16-19 nt entre R1 y R2, y que aparentemente es el efecto de los tres subsitios juntos lo que permite una activación completa. Sin embargo, los 3 subsitios no son estrictamente necesarios para una activación eficaz y además el subsitio más importante para la activación es diferente en cada promotor, lo que sugiere que puede haber una compensación de un subsitio degenerado por parte de los otros dos. La total conservación de los residuos no parece ser requisito indispensable para que una secuencia pudiera ser considerada un subsitio de unión de CbrB, lo que aumenta la complejidad de la búsqueda de nuevos promotores regulados por esta proteína.

La mayoría de activadores de promotores dependientes de σ^N se unen como dímeros a sitios palindrómicos completos, asociándose cada subunidad a un subsitio. Los sitios de unión pueden estar repetidos en la región promotora, como es el caso de los sitios de unión de NtrC en *PglA* de *E. coli*, lo cual facilita la oligomerización de al menos 3 dímeros del activador, que es necesaria para obtener la actividad ATPasa y activar la transcripción (Porter *et al.*, 1993, Reitzer & Magasanik, 1986). En algunos promotores activados por NtrC, como el promotor de *glnK* de *E. coli* (Atkinson *et al.*, 2002) o el promotor de *atzT* de *Pseudomonas* sp. ADP (Platero *et al.*, 2012) algunos sitios palindrómicos repetidos pueden estar degenerados de forma que solo se reconozcan subsitios o un sitio y medio. Sin embargo, dada la estructura en 3 subsitios, la

permisividad en el espaciamiento entre los subsitios y la extensión de las regiones protegidas en los promotores de los genes diana de CbrB, es poco probable que un único dímero de la proteína se una a estas regiones. Si un monómero de CbrB se uniera a uno de los subsitios de este sitio palindrómico en los promotores de *crcZ*, *crcY* y *PP2810*, el espaciamiento entre los subsitios de los extremos de la zona protegida sería demasiado grande como para que la otra subunidad contactase con el otro subsitio. A diferencia del modo de unión convencional al ADN de este tipo de activadores, se propone que la unión de CbrB a las regiones promotoras de estos genes se realiza en sitios compuestos en los que tres monómeros interaccionarían con los tres subsitios y que el resto de monómeros se intercalarían en el oligómero activo quedando estabilizados entre ellos mediante interacciones proteína-proteína de una forma cooperativa que resulta en la formación de un único complejo CbrB-DNA detectable por EMSA (Figura 84). Esta idea está a su vez apoyada por el análisis del estado de oligomerización de CbrB que mostró que en las preparaciones ensayadas y activas donde CbrB se encontraba en solución principalmente en forma de monómero, no de dímero. La tendencia de la forma no fosforilada de CbrB de oligomerizar, puesto que es parcialmente activa incluso sin fosforilar (ver más adelante), podría favorecer el modo de unión propuesto.

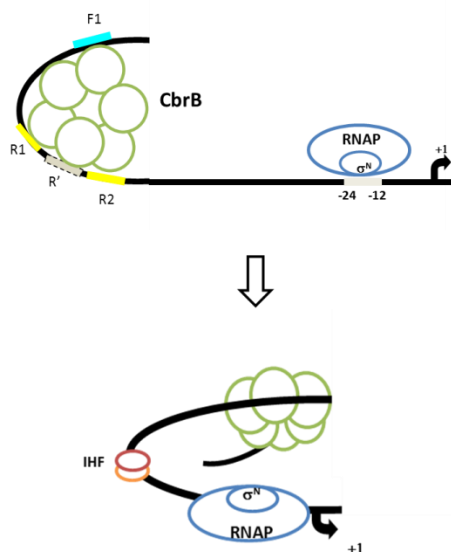


Figura 84. Modelo propuesto de activación de CbrB. Se muestran seis monómeros de CbrB en verde, unidos a los subsitios de unión de CbrB F1, R1, (R') y R2. Mediante la cooperación de IHF se produce un doblez en el DNA que permite la interacción entre CbrB y el complejo RNAPolimerasa- σ^N .

En la bibliografía se ha descrito que la fosforilación de los reguladores de respuesta como NtrC no es imprescindible ni incluso importante para la unión del regulador al DNA. Sin embargo, su fosforilación sí estimula su oligomerización a través de los dominios centrales de sus subunidades y la obtención de su actividad ATPasa, que es esencial para activar la transcripción. Este estricto requerimiento de la fosforilación para la activación de este tipo de reguladores ha sido extensamente caracterizado en Enterobacterias (Weiss *et al.*, 1991, Austin & Dixon, 1992, Ninfa *et al.*, 1993, Lee *et al.*, 2000) y también en *P. putida* (Hervas *et al.*, 2010). En el trabajo realizado durante esta tesis se ha observado que la fosforilación de CbrB, al igual que ocurre con NtrC, no parece incrementar la afinidad de CbrB por el DNA y además aunque el efecto de la fosforilación de CbrB en la activación *in vitro* de *crcZ* y *crcY* a dosis bajas de CbrB sí fue considerable, a diferencia de los otros activadores, la fosforilación de CbrB no fue estrictamente necesaria para la activación transcripcional de estos promotores, pudiéndose alcanzar hasta un 40% de los niveles obtenidos por la forma fosforilada CbrB-P si CbrB se encontraba en dosis suficientemente altas. Una actividad significativamente alta del regulador de respuesta en su forma no fosforilada puede tener consecuencias en la correcta regulación de sus dianas porque se encontraría siempre al menos parcialmente activo. Sin embargo, la regulación *in vivo* de la actividad de CbrB por fosforilación puede ser importante para la regulación de sus genes diana si la concentración de CbrB es lo suficientemente baja, condición en la cual las diferencias de actividad entre la forma fosforilada y no fosforilada son mayores. Este parece ser el caso en *P. putida* pues un mutante carente de su quinasa correspondiente, CbrA (Capítulo 4), mostró un fenotipo similar al mutante *cbrB*, lo que indica que CbrB activa *in vivo* en respuesta a la fosforilación por CbrA.

5.1.2. Relación del sistema CbrAB con el fenómeno de represión catabólica mediado por Crc.

Además del control de la asimilación de diversas fuentes de carbono, se ha descrito que el TCS CbrAB podría tener un papel más amplio en el metabolismo del carbono, e interactuar con el sistema de CCR mediado por Crc. Se ha descrito que la actividad de Crc está directamente relacionada con los niveles de los RNA pequeños *CrcZ/Y* en *P. putida* y *P. aeruginosa*. *CrcZ* y *CrcY* en su estructura secundaria contienen dominios que mimetizan los sitios de reconocimiento de Crc en sus mRNA diana, y la

unión a ellos provoca su inactivación (Sonnleitner et al., 2009, Moreno et al., 2012). Un mecanismo de regulación similar ha sido descrito para los sRNAs RsmY y RsmZ, que regulan otras proteínas de unión a RNA que, al igual que Crc, funcionan como represores traduccionales de sus RNAm diana (Kay et al., 2005, Kay et al., 2006). Dado que este tipo de proteínas de unión a RNA pueden alterar la estabilidad de los RNAm diana (Lapouge et al., 2008), es posible que la unión de la proteína incremente el tiempo de vida media del RNA pequeño, como ocurre con la estabilización de otros RNAs reguladores llevada a cabo por la proteína de unión a RNA Hfq (Hajnsdorf & Boni, 2012).

Recientemente se ha incorporado un nuevo elemento en la cascada regulatoria Crc/CrcZY/CbrB. (Milojevic et al., 2013) y col han descrito que la proteína de unión a RNA Hfq interacciona con los pequeños RNAs. Sin embargo, los datos *in vivo* de la implicación de Crc en el proceso de represión catabólica en *Pseudomonas* son incuestionables (Collier et al., 1996, Hester et al., 2000, Yuste & Rojo, 2001, Ruiz-Manzano et al., 2005, Moreno et al., 2007, Moreno et al., 2010) y además se ha comprobado que la unión de Hfq a las dianas descritas para Crc (AmiE y CrcZ), se veía favorecida por la adición de cantidades crecientes de Crc y la viceversa. Por lo tanto, Hfq parece ser requisito para el reconocimiento de Crc de los mRNAs diana para ejecutar la represión catabólica (comunicación en el 14 Congreso Internacional de Pseudomonas, Fernando Rojo). La capacidad de Hfq de estabilizar los RNAs que une también podría jugar también un papel importante en este proceso (Moller et al., 2002, Zhang et al., 2003, Vogel & Luisi, 2011).

El control de la expresión de los RNAs pequeños es clave para la regulación de la CCR. De hecho, una delección simultánea de *crcZ* y *crcY* en *P. putida*, provoca un efecto de represión catabólica constitutiva mientras que la superproducción de alguno de estos genes, reduce la represión (Moreno et al., 2012). Por tanto, la regulación directa mediada por CbrB de la expresión de *crcZ* y *crcY* lo hace partícipe en el proceso de CCR. En esta tesis se ha descrito además que existe una fracción en la transcripción de *crcY* que no es dependiente de CbrB, y que proviene de un promotor localizado aguas arriba del promotor descrito previamente, a pesar de que existe una secuencia terminadora que no parece ser muy efectiva. Datos de complementación del fenotipo de no dispersión de *biofilm* de un mutante de inserción de *mvaB* localizado aguas arriba de *crcY* sugieren que podría existir un promotor aguas arriba de *PP3539* desde donde se daría una transcripción *read-through* que alcanzaría *crcY* (Lopez-Sanchez et al., 2013). Este dato ha sido corroborado

mediante la medida de actividad β -galactosidasa de una fusión transcripcional $P_{PP3539}::lacZ$ demostrando que es independiente de CbrB y del medio analizado (Figura 22). Como parte de un transcrito de mayor tamaño, es posible que CrcY no sea capaz de adoptar el correcto plegamiento que le permita interaccionar con la maquinaria de represión catabólica. Sin embargo, los transcritos detectados por *Northern blot* y posterior tratamiento con la exonucleasa TEX, indicaron la presencia de CrcY maduro en el mutante $\Delta cbrB$ que proviene del procesamiento de un transcrito mayor (Figura 21). Dado que los transcritos maduros de CrcY provenientes de un procesamiento son más abundantes en un medio con succinato en comparación con LB, proponemos que al ser más efectivo el procesamiento del transcrito en CrcY maduro, la inhibición de la actividad de Crc tendría un efecto desrepresor en estas condiciones.

En este trabajo, además del efecto activador de CbrB, hemos detectado un claro efecto de la proteína Crc en los niveles transcripcionales de *crcZ* y *crcY* (Figuras 40 y 41). Dado que estos transcritos carecen de los sitios de unión de Crc al ser fusiones transcripcionales *lacZ* al inicio de la transcripción desde estos promotores, el efecto de Crc no puede ser debido a una estabilización de los RNAs pequeños mediada por la unión a Crc (Figura 40). Una posibilidad es que Crc, de alguna manera, controle la capacidad de transcripción activada por CbrB en estos promotores. Sin embargo, los ensayos de transcripción *in vitro* muestran que Crc no es necesaria para la activación de la transcripción de *crcZ* y *crcY*. Además, la mutación Crc no ejerció ningún efecto sobre la expresión de las fusiones transcripcionales o traduccionales *cbrB::lacZ*, lo que indica que CbrB se produce en un fondo mutante Crc (Figura 42). Estos datos apoyan la idea de que la falta de Crc impide la función activadora de CbrB bien porque su falta resulte en un CbrB inactivo (por ejemplo, no fosforilado) o porque resulte en la aparición de un represor transcripcional, cuya traducción estaría reprimida por Crc, que impida la función activadora de CbrB en estos dos promotores. En cualquier caso, parece que el efecto de la falta de Crc sobre la expresión de estos promotores debe ser indirecto, mediado a través de otro factor represor sin identificar, a través de la expresión de la quinasa CbrA o a través de la alteración de señales fisiológicas conducentes a la fosforilación de CbrB. Muchos de los fenotipos descritos para un mutante en el sistema CbrAB (Abdou et al., 2011, Amador et al., 2010, Garcia-Maurino et al., 2013, Li & Lu, 2007, Nishijyo et al., 2001, Yeung et al., 2011) han sido también descritos en un mutante *crc*, como son la regulación de la CCR, resistencia a antibióticos, afección en los sistemas de secreción,

motilidad o expresión de factores de virulencia asociados a *quorum sensing* (Linares *et al.*, 2010, Rojo, 2010). Dado que Crc ha sido tradicionalmente descrito como un represor traduccional, parecía poco probable que su implicación en la activación de *crcZ* y *crcY* fuera un efecto directo. Además, se demostró que Crc no ejerce un efecto sobre la transcripción o traducción de *cbrB* y este hecho apoya la hipótesis de que el efecto ejercido por Crc sobre los niveles de los pequeños RNAs *crcZ* y *crcY* sea indirecto, y debe estar mediado por otro factor sin identificar (Figura 85). Un mecanismo regulatorio similar ha sido previamente propuesto para el sistema Gac/Rsm (Humair *et al.*, 2010). Esta regulación positiva por parte de Crc de los RNAs que van a controlar su propia función reguladora de la traducción puede ser relevante para la CCR y para los procesos regulados por GacA a través del represor traduccional RsmA ya que permite el ajuste de los niveles de sRNAs según la cantidad de proteína de unión a RNA disponible, evitando un exceso de producción.

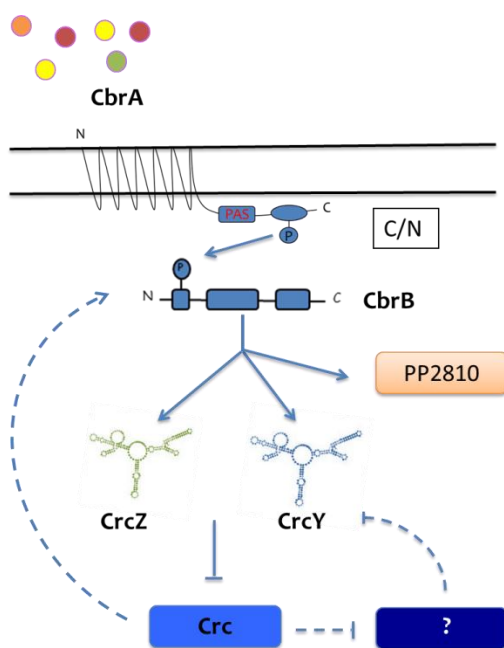


Figura 85. Modelo global de regulación del TCS CbrAB y su relación con Crc. CbrA fosforila el regulador de respuesta CbrB en respuesta a una(s) señal(es) externa del medio o según el ratio C/N del interior celular. Esta respuesta media la activación de los RNAs pequeños CrcZ y CrcY y el gen con función sin asignar *PP2810*. La actividad represora traduccional de Crc se ve inhibida por la acción de los sRNAs pero esta proteína a su vez podría reprimir la traducción de un regulador desconocido que actuara como represor transcripcional de la expresión de *crcZ* y *crcY* o afectar los niveles de fosforilación de CbrB.

Tomando todos estos resultados en su conjunto, queda patente que el número de elementos implicados en el proceso de Represión Catabólica en las *Pseudomonas* muestra la complejidad de su regulación. De cualquier modo, se ha demostrado que los niveles de los RNAs pequeños son los elementos más importantes en todo el proceso, por tanto situando la activación mediada por el sistema CbrAB en lo más alto de la cascada regulatoria.

5.2. Identificación de genes directamente regulados por CbrB en *P. putida*.

Los avances tecnológicos en las plataformas de secuenciación masiva de los últimos años han permitido el estudio genómico global de proteínas de unión a DNA mediante el uso de una técnica que combina la inmunoprecipitación de DNA y su posterior secuenciación (ChIP-seq) (Kharchenko *et al.*, 2008). Esta técnica es el método más directo para la identificación de sitios de unión de una proteína de unión a DNA. Hay que destacar que, dada la diversidad de tipos celulares, condiciones, factores y modificaciones que pueden ser ensayadas, es prácticamente imposible la definición de protocolos estándar que sean apropiados para todos los casos.

Tras una puesta a punto de esta técnica en *P. putida*, se obtuvo un DNA inmunoprecipitado por la proteína CbrB con un anticuerpo policlonal generado en conejo. Tras la validación del ensayo cuantificando el enriquecimiento de *crcZ* en la fracción inmunoprecipitada, se identificaron 117 picos con una amplitud media de 2370 pb (Anexo 1). Este tamaño resultó mayor de lo esperado puesto que los fragmentos inmunoprecipitados habían sido fragmentados en un tamaño inferior a 500 pb, por lo que cada pico debía ser resultado del solapamiento de diferentes fragmentos secuenciados en la misma región. Sin embargo, la identificación de las secuencias promotoras de *crcZ* y *crcY* entre estos picos (posiciones 2 y 46) fueron considerados en su momento un control positivo que validaba la aproximación experimental.

La combinación de resultados de transcriptómica y de ChIP-seq para el regulador transcripcional CbrB debería proporcionar la información necesaria para poder establecer unas pautas comunes en las regiones identificadas mediante herramientas bioinformáticas y permitir definir una posible secuencia consenso de unión de este regulador transcripcional (Blanka *et al.*, 2014, Perkins *et al.*, 2013, Gilbert *et al.*, 2009, Grainger *et al.*, 2004). La diversidad de funciones y procesos regulados por los genes

contenidos en los 117 fragmentos del ChIP-seq de CbrB fue muy grande, como así ocurría con los datos obtenidos mediante la aproximación de microarrays. Ambos ensayos (microarrays y ChIP-seq) fueron realizados en un medio mínimo que contenía L-aminoácidos como fuente de carbono. Experimentos posteriores realizados en nuestro laboratorio mostraron que quizás este medio no fuera el más indicado para estudiar los genes activados por el sistema de dos componentes CbrAB, al ser un medio casi tan represor como un medio rico LB.

A menudo, las búsquedas de motivos son insuficientes para identificar todos los sitios de unión *in vivo* que puede presentar una proteína ya que muchas proteínas reconocen una amplia variedad de secuencias parecidas de las cuales finalmente solo se unen a una pequeña fracción (Badis *et al.*, 2008, Walter & Biggin, 1996). Debido a esto, aunque pueda extraerse un motivo consenso de una serie de datos en su conjunto, en muchas ocasiones, una buena parte de los sitios de unión carecerán de un motivo obvio o podrán contener múltiples versiones degeneradas del motivo y no podrán ser asignados a una secuencia de reconocimiento particular (Cawley *et al.*, 2004, Walter & Biggin, 1996). La búsqueda entre los 117 picos seleccionados de al menos una de las posibles secuencias de unión de CbrB (TGTTAC o GTAACA), y que además tuviesen secuencias de posibles promotores dependientes de σ^N aguas arriba de un gen dio como resultado 18 fragmentos (Tabla 6). Dentro de estos, destacamos 9 genes como de mayor interés por contener los posibles subsitios de unión de CbrB en regiones intergénicas a una distancia de menos de 350 pb del promotor σ^N . Cuatro de ellos (que incluían los genes *crcZ*, *crcY*, *PP2810* y *PP3327*) contenían dos sitios de unión a CbrB de conservación perfecta (TGTTAC y GTAACA) en su región promotora, y los tres primeros resultaron además estar sujetos a una regulación directa por CbrB. El resto son *PP1809* (hypothetical protein), *PP2381* (hypothetical protein), *PP2940* (hypothetical protein), *PP1629 RecA* (recombinase A) y *PP0636* (cold shock DNA-binding domain-containing protein) cuya regulación por CbrB queda pendiente de ser demostrada experimentalmente.

Los experimentos de ChIP-seq que usan la sonicación como método de rotura del DNA suelen resultar en una librería de fragmentos de DNA de unas 200 pb (Furey, 2012). Por tanto, la técnica de ChIP-seq permite tener acceso a regiones de unión de alta ocupación que están enriquecidas estadísticamente más que proveer una serie precisa de sitios de unión. Una buena parte de este DNA puede representar falsos positivos y

muchos otros sitios de baja afinidad pueden no ser captados (falsos negativos). Además, la heterogeneidad en el tamaño de los fragmentos de DNA limita técnicamente la resolución del mapeo y por tanto en ocasiones, no permite diferenciar los sitios de unión de *clusters* de sitios vecinos (Rhee & Pugh, 2011). La búsqueda de motivos de unión consenso en las bases de datos entre los 117 picos del ChIP-seq reveló que no se había producido un enriquecimiento en secuencias que contuvieran los sitios de unión predichos para CbrB. Además, tras realizar un análisis *in silico* de la región intergénica entre *PP3327* y *PP3328.1* (una de las potenciales dianas de CbrB) se identificaron 4 posibles subsitios de unión de CbrB (F1, F2, R1 y R2) y dos posibles promotores divergentes regulados por σ^N a una distancia adecuada de los mismos. Sin embargo, el ensayo de actividad realizado probando ambas orientaciones descartó la regulación mediada por CbrB en las condiciones ensayadas (Figura 57). Existen otros dos genes cuya regulación por CbrB ha sido analizada empíricamente en nuestro laboratorio. Se trata de *PP0036* (LysR family transcriptional regulator) y *PP3234* (Heat shock protein 20). Ambos genes tienen un promotor dependiente de σ^N y al menos un subsitio de unión de CbrB aguas arriba de este, pero no se detectó regulación mediada por CbrB. Por tanto, de los 6 genes analizados, únicamente 3 están regulados por CbrB (*crcZ*, *crcY* y *PP2810*) y 3 no lo están (*PP3327*, *PP0036* y *PP3234*) aunque tienen una disposición correcta de promotor dependiente de σ^N y al menos un subsitio de unión de CbrB.

Para poder explicar los resultados obtenidos caben diferentes posibilidades. En primer lugar es posible que las dianas que son directamente reguladas por CbrB estén un número inferior a lo inicialmente esperado (decenas en lugar de centenas de genes) por lo que una aproximación por ChIP-seq tenga una alta probabilidad de obtener falsos positivos. Por otra parte, haciendo un análisis del alineamiento de las secuencias promotoras de *crcZ*, *crcY* y *PP2810* (ver figura 58 y apartado 5.1.1 de la discusión) se hace evidente que CbrB debe presentar una flexibilidad en el reconocimiento de sus dianas que no había sido observada con anterioridad en reguladores del tipo NtrC. Como consecuencia, es posible que CbrB sea capaz de reconocer sitios de unión poco conservados o que se encuentran alejados unos de otros, dificultando su detección y la generación de una secuencia consenso global de unión para CbrB. Sin embargo, la explicación más posible es que durante el proceso de inmunoprecipitación se haya producido una co-inmunoprecipitación de complejos DNA-proteína con otros anticuerpos

generados en la inmunización policlonal del conejo, o bien una unión inespecífica de CbrB al DNA.

En la bibliografía se han descrito diferentes prácticas que pueden mejorar considerablemente los resultados. El éxito de un ChIP-seq dependerá principalmente del desarrollo y validación de un anticuerpo de alta afinidad a la proteína de unión y la fragmentación del DNA inmunoprecipitado. Es conveniente además realizar los controles pertinentes tras la inmunoprecipitación. En algunos ensayos ChIP-chip o ChIP-seq publicados en los últimos años, se utilizó en paralelo una muestra en la que no se añadía anticuerpo para la inmunoprecipitación (*mock-IP*) que permite sustraer el DNA no inmunoprecipitado específicamente por el anticuerpo elegido (Laub *et al.*, 2002, Grainger *et al.*, 2004, Kahramanoglou *et al.*, 2011). Es posible además comparar los resultados obtenidos con el ruido de fondo generado por la inmunoprecipitación que produce a) otro anticuerpo no específico (Grainger *et al.*, 2004); b) una proteína de fusión que no lleva el tag específico utilizado para la IP (Perkins *et al.*, 2013, Grainger *et al.*, 2007) c) eventos de inmunoprecipitación independientes (Gilbert *et al.*, 2009, Grainger *et al.*, 2004, Blanka *et al.*, 2014) o d) un mutante de delección de la proteína de interés (Gilbert *et al.*, 2009). De esta forma, es posible identificar el DNA que ha sido inmunoprecipitado inespecíficamente. Finalmente, en el análisis bioestadístico del DNA inmunoprecipitado, aquellas lecturas que no difirieron significativamente del ensayo control son extraídas del análisis.

Así mismo, la calidad y pureza del anticuerpo que se utilice en la inmunoprecipitación puede afectar considerablemente la especificidad en la unión. Algunos ChIP-seq realizados con anticuerpos comerciales que reconocen un tag fusionado a la proteína reguladora, como FLAG o His-tag, obtuvieron excelentes resultados (Perkins *et al.*, 2013, Grainger *et al.*, 2007). Por otra parte es posible utilizar un anticuerpo policlonal generado específicamente para reconocer una proteína de interés y sus epítomos. Un ejemplo de mejora con objeto de aumentar la especificidad de este anticuerpo es la realización de una limpieza del suero animal incubando con las proteínas precipitadas con acetona provenientes de una estirpe mutante del regulador en estudio (Frisch & Bender, 2010), o también la realización de una purificación mediante una cromatografía de afinidad (Gilbert *et al.*, 2009). Recientemente se han publicado ChIP-seq realizados en *Pseudomonas* que

incorporan algunos de los controles y mejoras descritos arriba (Butcher *et al.*, 2011, Balasubramanian *et al.*, 2013).

Existen actualmente otras metodologías que permiten aumentar considerablemente la precisión del ensayo ChIP-seq. Un ejemplo es el tratamiento del DNA unido mediante *crosslink* a la proteína con λ -exonucleasa (ChIP-exo). Esta enzima digiere los extremos 5' de los fragmentos de DNA a una distancia adecuada de la zona de unión de la proteína, eliminando por tanto el DNA contaminante no unido. Experimentos ChIP-exo realizados en levaduras con el factor transcripcional Reb1 permitieron elucidar sitios de unión con alta resolución, con un incremento de 90 veces de precisión en comparación con el protocolo estándar y 40 veces de incremento en el ratio señal/ruido, indicando una menor señal contaminante (Rhee & Pugh, 2011).

Con el objetivo de obtener el mayor rendimiento posible de los datos disponibles en ese momento, se realizó un nuevo análisis bioestadístico de los fragmentos de DNA inmunoprecipitados en el ChIP-seq haciendo un cribado del ruido de fondo mediante la comparación estadística de dos réplicas biológicas diferentes (Anexo 5). El visualizador de picos IGV permitió corroborar la reducción de la señal de fondo al permitir la visualización de picos discretos. Se establecieron 4 categorías donde los picos de la primera son los que reúnen los mejores requisitos estadísticos por su reproducibilidad y por su reducida amplitud. A pesar de encontrar los picos de *crcZ* y *crcY* entre las categorías 1 y 2, el pico de *PP2810* fue asignado a la categoría 4 (por presentar una baja reproducibilidad estadística), lo cual pone de manifiesto que este método podría a su vez resultar bastante restrictivo. Sin embargo, los picos que se encuentran en las categorías 1, 2 y 3 y además son coincidentes con el estudio realizado por BGI son unos candidatos ideales para analizar experimentalmente si su expresión depende directamente de CbrB (Anexo 5, picos marcados con “yes” en la columna BGI).

5.3. Papel de la histidina quinasa CbrA en la activación mediada por CbrB en *Pseudomonas putida*.

El sistema de dos componentes CbrAB fue descrito por primera vez para la bacteria *P. aeruginosa* como una pareja histidina sensora quinasa (CbrA) y regulador de respuesta (CbrB) (Nishijyo *et al.*, 2001). Mutaciones generadas en estos genes tanto en *P. aeruginosa* como en *P. putida* obtuvieron como resultado estirpes que presentaban

deficiencias en la utilización de diversas fuentes de carbono (como histidina, prolina o citrato), así como otros fenotipos no relacionados, como quimiotaxis o tolerancia al estrés (Nishijyo et al., 2001, Amador et al., 2010, Yeung et al., 2011, Li & Lu, 2007).

En el desarrollo de esta tesis, se ha analizado la implicación de CbrA de *P. putida* en algunos de los fenotipos descritos para CbrB como el crecimiento en diferentes fuentes de carbono, la movilidad por *swimming* y la activación transcripcional del sRNA CrcZ (Amador et al., 2010, Garcia-Maurino et al., 2013). Datos previos en nuestro laboratorio mostraron la presencia de un promotor dependiente del factor σ^{70} a 123 pb del codón de inicio de *cbrB*, dentro de la región codificante de *cbrA*, el cual promueve la expresión de *cbrB* de forma independiente de *cbrA* (tesis doctoral de C. Amador), por lo que se conservó esta región 3' de *cbrA* para la construcción de un mutante de delección $\Delta cbrA$. El crecimiento de la estirpe mutante MPO413 ($\Delta cbrA$) se vió afectado en su crecimiento en un medio mínimo suplementado con distintas fuentes de carbono (succinato, citrato y arginina) como ya había sido descrito para el mutante $\Delta cbrB$ (Amador et al., 2010), y también reveló otros fenotipos afectados como la movilidad por *swimming* o la capacidad de activación de la expresión de *crcZ* y *crcY*, que también están afectados en el mutante CbrB. La coincidencia de fenotipos de los mutantes CbrA y CbrB indica que CbrA es la única histidina quinasa capaz de fosforilar a CbrB en *P. putida* y que en esta estirpe CbrA no parece fosforilar otros reguladores de respuesta distintos a CbrB.

En *P. aeruginosa* se ha relacionado además a CbrA con procesos relacionados con virulencia como, formación de *biofilms*, movilidad por *swarming*, citotoxicidad y resistencia a antibióticos (Yeung et al., 2011), aunque la complementación en plásmido multicopia con la secuencia de *cbrA* silvestre no rescataba los fenotipos afectados en su totalidad, quizás debido a un desfase entre el número de copias del sensor y del regulador. Para evitar un efecto de esta naturaleza, el análisis de complementación del fenotipo de *cbrA* se realizó mediante inserción cromosómica de este gen expresado desde su propio promotor.

Además, se analizó la importancia de los diferentes dominios de la proteína sensora CbrA, poniendo de manifiesto la importancia del dominio PAS en la actividad CbrA. La parte carboxilo terminal de CbrA presenta un 34% de identidad con NtrB de *E. coli* sin embargo no se ha encontrado ninguna función específica en el reconocimiento de la señal en el dominio PAS de NtrB (Krell et al., 2010). Sin embargo, para otras histidinas quinasas

que presentan una organización de dominios similares a CbrA (TM-PAS-HK) se ha demostrado que el dominio PAS juega un papel esencial en la detección de la señal. Por ejemplo, en el caso de la HK FixL, la señal (O_2) es reconocida en el citosol por un dominio PAS que contiene un grupo hemo. La unión del oxígeno al grupo hemo provoca unos cambios conformacionales que inician la cascada de señalización (Gilles-Gonzalez *et al.*, 2006).

Una característica interesante de CbrA es que contiene 13 dominios transmembrana que presentan una alta homología con la proteína simportadora de Na^+ /prolina PutP. Existe poca información acerca del mecanismo de recepción de la señal en este tipo de quinasas sensoras y se especula que estas podrían detectar la presencia de solutos durante el transporte. De ser esto cierto, estas quinasas representarían un único tipo de HK transmembrana que detectarían su estímulo durante el transporte (Mascher *et al.*, 2006). Este tipo de detección se asemeja a los receptores de glucosa de *Saccharomyces cerevisiae*, que son homólogos a transportadores secundarios de glucosa que han perdido su función de transporte (Ozcan *et al.*, 1998). Con objeto de establecer la importancia de los dominios transmembrana se construyó una delección completa de todos los dominios, que daría lugar a una proteína CbrA citoplásmica y una delección algo menor que mantenía los 2,5 últimos dominios TM. El mutante carente de todos los dominios TM no tenía actividad CbrA, lo que sugiere que los dominios TM son esenciales para la actividad de CbrA. Sin embargo, este resultado negativo no permite establecer conclusiones claras puesto que podría ocurrir que esta proteína mutante no se pliegue correctamente o que incluso no se produzca adecuadamente.

Por otra parte, se observó que la construcción que contenía los 2,5 dominios tenía una actividad parcial en la activación de *crcZ*. Puesto que el análisis de secuencia de este mutante indicó que por accidente se había desfasado el ATG de inicio de CbrA con el resto de la secuencia de CbrA, se pensó que podría haber un inicio de la traducción alternativo en fase con la proteína silvestre dentro de los 2,5 dominios transmembrana remanentes. Tratando de averiguar cómo se producía esta proteína truncada y cuál de los posibles ATGs alternativos se utilizaba, se delecionó la SD y el ATG iniciador original de CbrA, resultando una variante de CbrA incluso más activa que la mutante TM2,5, lo que apoyaba una iniciación de la traducción alternativo en la región del resto del dominio TM que le quedaba. Sin embargo, la mutagénesis puntual de cada uno de los posibles ATGs

alternativos siguió produciendo versiones activas de CbrA. Analizando la secuencia de estas construcciones que presentaban un fenotipo silvestre, se observó que la delección de la SD y el ATG original de CbrA puso la pauta de lectura de CbrA en fase con la pauta de lectura de una *orf*, no anotada en *P. putida*, que se encuentra aguas arriba de *cbrA* y que se solapa con él. Por una parte, muy posiblemente CbrA-TM2,5 se esté traduciendo desde alguno de los ATGs alternativos pero al haberse mutado mutado éstos en una construcción que tiene fusionada la pauta de lectura de CbrA a la de la pequeña *orf* por haber delecionado la SD y el codón de inicio original, no podemos identificarlo. Por otra parte, en cualquier caso, estas proteínas mutantes que siguen siendo completamente activas, carecen de los primeros 10,5 dominios TM, por lo que no parece que éstos sean primordiales para la actividad CbrA.

Aunque, ciertamente, no conocemos exactamente cómo se produce la versión CbrA-TM2,5, los análisis para su esclarecimiento han puesto de manifiesto la presencia de una nueva *orf*, que denominamos *PP4694.1*, asociada al operon *cbrA*. Puesto que la secuencia de esta nueva *orf* se conserva mucho en los genomas de las *Pseudomonas* secuenciadas y se encuentra siempre aguas arriba pero solapando con *cbrA*, posiblemente esta *orf* tenga alguna función. El solapamiento de este gen con *cbrA* hace pensar que podría haber acoplamiento traduccional entre estos dos genes. El acoplamiento traduccional implica una interdependencia de la eficiencia de la traducción de genes vecinos que se encuentran codificados por el mismo mRNA policistrónico (Lovdok *et al.*, 2009, Schumperli *et al.*, 1982). El acoplamiento traduccional se ha observado en diferentes operones de bacterias así como bacteriófagos (Berkhout & van Duin, 1985, van de Guchte *et al.*, 1991, Praszkie *et al.*, 1992, Kastelein *et al.*, 1983). Un ejemplo típico de operón con acoplamiento traduccional donde su mecanismo de acción se ha estudiado en profundidad es *nifLA*, que regula la fijación de nitrógeno en *Klebsiella pneumoniae*. La traducción de *nifA* está acoplada y limitada por la de *nifL*, lo que evita un exceso de producción de NifA en relación a NifL (Govantes *et al.*, 1996). El acoplamiento traduccional en este operón se produce por un mecanismo de reiniciación mediante el cual los ribosomas encargados de la traducción de *nifL* reinician la traducción en la región de inicio de la traducción de *nifA* (Govantes *et al.*, 1998), lo que garantiza una correcta estequiometría 1:1 entre estas dos proteínas reguladoras que forman un complejo. El posible acoplamiento traduccional entre *PP4694.1* y *cbrA*, unido a la presencia de dos dominios transmembrana en *PP4694.1* y su similitud con otras proteínas de membrana,

hacen pensar que esta proteína pueda formar un complejo funcional con CbrA, lo que tendrá que analizarse experimentalmente en el futuro.

5.4. Señal interna reguladora de la actividad del TCS CbrAB.

La señal que determina la actividad del sistema CbrA/B es desconocida. En la bibliografía, se ha descrito el succinato como fuente de carbono represora en *P. aeruginosa* y como no represora en *P. putida* (Garcia-Maurino et al., 2013, Moreno et al., 2012, Sonnleitner et al., 2009). En este trabajo, se ha analizado por primera vez y en paralelo la actividad de la proteína sensora CbrA para las estirpes *P. putida* y *P. aeruginosa* mediante la cuantificación de los niveles de inducción del gen *crcZ* cuando utilizan diferentes fuentes de carbono. Con esta aproximación, se ha determinado que la expresión de *crcZ* está regulada de forma similar en ambas especies (Figura 78). Entre todas las fuentes de carbono ensayadas, observamos que los mayores niveles de inducción de *crcZ* se obtienen en oxalacetato, arginina y serina; en lisina, alanina, piruvato y lactato se obtienen niveles intermedios altos; y en histidina, prolina, acetato, citrato, fumarato, malato y succinato niveles intermedios bajos. El medio rico LB, en el que hay represión catabólica, fue el que presentó niveles más bajos de *crcZ*. Además, los medios en los que el crecimiento de las estirpes fue más lento fueron en los que se alcanzaron los mayores niveles de activación de *crcZ*. De nuestros resultados podemos interpretar que las diferencias a la hora de definir una fuente de carbono como represora para *P. aeruginosa* y *P. putida* eran debidas al uso de diferentes condiciones experimentales. Por tanto, la fuente de carbono succinato puede ser considerada represora si se compara con manitol o no represora si se compara con LB.

En las dos estirpes de *Pseudomonas*, el sistema de dos componentes CbrA/CbrB parece ser intercambiable, ya que la expresión de *crcZ* y *crcY* se reguló de forma similar cuando se intercambiaron fusiones transcripcionales de estos genes a *lacZ* entre especies (Tesis doctoral de Martina Valentini). Para confirmar que la regulación de la actividad de CbrA es similar en ambas especies, se llevó a cabo el intercambio de *cbrA* de *P. putida* con *cbrA* de *P. aeruginosa* y viceversa. Se construyeron las estirpes mutantes de delección de *cbrA* para ambas estirpes y se complementó la mutación con el gen *cbrA* del mismo género expresado desde su promotor y también con el del otro género mediante una inserción en el sitio Tn7 del cromosoma que garantizaba un bajo número de copia. La

complementación con *cbrA* resultó exitosa de forma tanto inter como intraespecífica al analizar el crecimiento en un medio mínimo con citrato y la capacidad de activación de la expresión de *crcZ*, demostrando por tanto que ambas proteínas son perfectamente intercambiables entre las dos especies y complementan funcionalmente con gran eficiencia a las estirpes $\Delta cbrA$ de *P. putida* y *P. aeruginosa*.

Tras comprobar que ambas bacterias presentaban una respuesta similar ante los estímulos ensayados, se procedió a realizar un análisis del metaboloma en un único fondo genético (*P. aeruginosa*), ya que los resultados serían extrapolables a la otra estirpe (*P. putida*). Una observación directa del análisis del metaboloma es que las cantidades relativas de aminoácidos están incrementadas en condiciones de desrepresión (B y C) en comparación con la condición de crecimiento rápido (A). Esto podría ser un efecto indirecto de una tasa de síntesis de proteínas más lento, que dé lugar a una cantidad mayor de aminoácidos libres, pero también podría mostrar la participación de aminotransferasas (AT) en la transformación del ácido oxo- en el correspondiente aminoácido. Lamentablemente, la mayoría de los oxoácidos no se detectaron con ese análisis en ninguna condición. Entre los aminoácidos que se encuentran diferencialmente en las dos condiciones, GABA es el único metabolito que presenta un incremento en condiciones de CCR en comparación con las de limitación de carbono. Se ha descrito en la bibliografía a GABA como un regulador fisiológico de virulencia y citotoxicidad en *P. aeruginosa* PAO1, *P. syringae* y *P. fluorescens* ya que este regula la formación de *biofilm* y los fenómenos de adhesión (Park *et al.*, 2010, Dagorn *et al.*, 2013a, Dagorn *et al.*, 2013b). Se ha relacionado además su producción a partir de glutamato a través del sistema glutamato descarboxilasa (GAD) con la tolerancia a estrés por pH, facilitando la homeostasis intracelular (Feehily & Karatzas, 2013). Quizás el incremento en producción de GABA se haya facilitado como consecuencia del altísimo incremento en el *pool* de glutamato intracelular. El papel fisiológico de esta observación debe ser examinada con más detalle mediante alguna otra aproximación experimental.

El contenido de energía medido como el ratio ATP/ADP mostró un valor superior en la condición de limitación de carbono ($1,21 \pm 0,07$ and $0,93 \pm 0,03$, para C y B respectivamente) que en la condición A, ($0,43 \pm 0,07$), mostrando una mayor disponibilidad de ATP en las condiciones de mayor limitación de carbono. Esto podría reflejar un

intercambio más lento y una acumulación de ATP de la reducción en la síntesis de proteínas.

El glutamato es el compuesto que presentó una mayor concentración y un mayor número de veces de cambio al comparar las condiciones de limitación de carbono con las de represión catabólica. El glutamato es una molécula importante para todos los seres vivos al participar en numerosos procesos metabólicos. Se trata de un aminoácido que participa en la síntesis de proteínas y otros procesos fundamentales como la glicólisis, gluconeogénesis y el ciclo del TCA. Además, tiene un papel crucial pues actúa como un nexo entre el metabolismo del nitrógeno y el carbono y está estrechamente relacionado con el TCA y otras rutas de metabolismo central, sirviendo por tanto como un sustrato universal para procesos anabólicos y catabólicos. En bacterias, el glutamato puede ser sintetizado mediante dos rutas alternativas: la primera implica la aminación reductiva del 2-OG por la GDH en condiciones de exceso de nitrógeno ($>1 \text{ mM NH}_4^+$), dado que tiene una alta K_m por amonio y esta actividad es reprimida por NtrC (Santero *et al.*, 2012 (Hervas *et al.*, 2010). La desventaja de esta ruta es el requerimiento energético extra que supone. Sin embargo, cuando la concentración de amonio es más baja, su asimilación puede ser también canalizada por la participación de dos enzimas: la glutamina sintetasa (GS), y la glutamato sintasa, también denominada glutamina oxoglutarato aminotransferasa o GOGAT (Merrick & Edwards, 1995, Reitzer, 2003). Cuando se usa OAA como fuente de carbono, se favorece la ruta GDH al encontrarse desreprimida ya que NtrC se encuentra inactivo y se obtienen altos niveles de glutamato a partir de 2-OG (Figura 86). Una concentración elevada de glutamato en fase estacionaria ha sido previamente observada en *P. aeruginosa* siendo este hecho independiente de la condición, composición del medio, o fondo genético (Frimmersdorf *et al.*, 2010).

La acumulación de 2-OG y mucho más de glutamato, unido a los bajos niveles de metabolitos previos en el ciclo TCA en las condiciones B y C (crecimiento en OAA) podrían mostrar una desaceleración o bloqueo del ciclo TCA en las condiciones de no-CCR, probablemente debido a la actividad del complejo 2-OG deshidrogenasa (ODHC). El bloqueo del ciclo TCA en condiciones limitantes concuerda con el incremento de ATP, indicativo de una suficiencia energética en estas condiciones en las que el crecimiento y, por tanto la síntesis de proteínas, está ralentizado. Esta respuesta es muy similar a la que genera la bacteria productora de glutamato *Corynebacterium glutamicum*, que aprovecha

esta estrategia natural mediante la modificación de los flujos metabólicos para producir altos niveles de glutamato, reduciendo la actividad del complejo 2-OG deshidrogenasa (ODHC) que cataliza la transformación de 2-OG a succinil CoA (Asakura *et al.*, 2007, Shirai *et al.*, 2007).

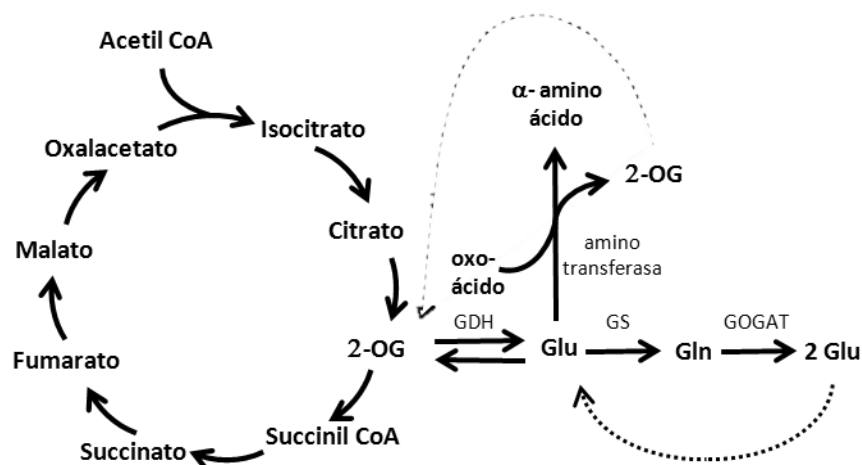


Figura 86. Diagrama que muestra el papel del glutamato en el metabolismo de las *Pseudomonas*. Las fuentes de carbono se representan en color negro y las enzimas en rojo.

Se ha descrito que, además de responder a las diferentes fuentes de carbono empleadas, el TCS CbrA/CbrB podría además regular la relación C/N de la célula, manteniendo un balance entre estos dos nutrientes (Abdou *et al.*, 2011, Li & Lu, 2007, Nishijyo *et al.*, 2001). Además, en *P. putida*, se ha sugerido que la actividad de Crc podría estar también influenciada por la relación C/N en el medio de cultivo empleado. Cuando la relación C/N estaba equilibrada, se observó una represión dependiente de Crc en la síntesis de PHA (polihidroxialcanoatos) mientras que cuando la fuente de nitrógeno era limitante, se inhibió el efecto represor dependiente de Crc. Esta regulación correlacionaba a su vez con los niveles de CrcZ/CrcY, siendo inferiores en una relación C/N equilibrada que en condiciones de limitación de nitrógeno (La Rosa *et al.*, 2014). Además, se ha propuesto que el fenómeno de CCR podría responder al estado energético interno celular y no a señales externas del medio (Duetz *et al.*, 1994, Duetz *et al.*, 1996, Rojo, 2010). Nuestros datos indican que cuando *Pseudomonas* crece con limitación de carbono, la relación C/N, medida como la relación intracelular 2-Oxoglutarato/Glutamina, se reduce mucho, entre 2 y 7 veces. Esta baja relación 2-OG/Gln, que indica una suficiencia de nitrógeno, es la que controla la actividad del TCS NtrBC a través de la PII uridil

transferasa (Schumacher *et al.*, 2013). A su vez, esta baja relación puede interpretarse también como una limitación de carbono, dada la estrecha relación metabólica que existe entre la disponibilidad de carbono y nitrógeno, por lo que el sistema CbrAB podría también mediar la respuesta a la disponibilidad de carbono actuando en función de esta relación C/N.

6. CONCLUSIONES

1. CbrB activa de forma directa y dependiente de σ^N e IHF la transcripción de los pequeños RNAs *CrcZ* y *CrcY*, que modulan la cantidad de Crc libre en la célula y, por tanto, el nivel de represión catabólica.
2. Existe cierta transcripción de *crcY* desde un promotor localizado aguas arriba de *mvaB*, que es independiente de CbrB y del medio de cultivo. Sin embargo, existe un procesamiento de este transcrito para dar lugar a CrcY maduro, que es más eficiente en condiciones de ausencia de represión catabólica.
3. P_{PP2810} es un promotor dependiente de σ^N cuya transcripción está regulada por el sistema Cbr. CbrB es indispensable para la máxima expresión de P_{PP2810} en condiciones de inducción.
4. CbrB se une a la región promotora de *crcZ*, *crcY* y *PP2810* en tres subsitios principales (F1, R1 y R2) que se encuentran altamente conservados en diferentes *Pseudomonas*. La contribución de cada subsitio a la activación es cooperativa, de forma que es la unión a los tres subsitios lo que permite los mayores niveles de activación.
5. CbrB es un monómero en solución. Se propone un modelo en el cual la unión a los tres subsitios F1, R1 y R2 podría producirse mediante interacción de un monómero de CbrB con cada uno de ellos, estabilizándose posteriormente el complejo oligomérico de CbrB asociado a su función activadora mediante interacción proteína-proteína.
6. CbrB, a diferencia de su homólogo NtrC, es capaz de activar la transcripción de los sRNAs en su forma no fosforilada, si se encuentra en una dosis suficientemente elevada.
7. El represor traduccional Crc regula positivamente los niveles de *crcZ* y *crcY*. Esto supondría un nivel de autorregulación del sistema según los niveles de Crc libre, que impediría un exceso en la producción de los sRNAs. Dada la función de Crc, esta regulación debe ser indirecta, presumiblemente inhibiendo a un represor transcripcional no descrito.

8. Los fenotipos descritos para un mutante *cbrB* en *P. putida* se corresponden con los de un mutante *cbrA*, lo cual indica que esta quinasa podría ser la única responsable de activar la respuesta de este sistema.
9. Los primeros 10,5 dominios transmembrana de CbrA son dispensables para la funcionalidad de esta proteína.
10. Se ha identificado en *P. putida* una *orf* que se traduce (*PP4694.1*) localizada aguas arriba pero solapando con *cbrA*. La secuencia y el contexto de esta *orf* está muy conservada entre las *Pseudomonas* lo que sugiere que puede ser importante para la funcionalidad del sistema Cbr.
11. Las proteínas sensoras histidina quinasa CbrA de *P. aeruginosa* PAO1 y *P. putida* KT2442 son intercambiables entre especies y por tanto podrían reconocer una misma señal inductora del sistema Cbr. La señal inductora del TCS CbrAB es desconocida, pero nuestro análisis del metaboloma apunta a que el balance interno de C/N es importante.

- Abdou, L., H. T. Chou, D. Haas & C. D. Lu, (2011) Promoter recognition and activation by the global response regulator CbrB in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology* **193**: 2784-2792.
- Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller & D. J. Lipman, (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic acids research* **25**: 3389-3402.
- Amador, C. I., I. Canosa, F. Govantes & E. Santero, (2010) Lack of CbrB in *Pseudomonas putida* affects not only amino acids metabolism but also different stress responses and biofilm development. *Environmental microbiology* **12**: 1748-1761.
- Asakura, Y., E. Kimura, Y. Usuda, Y. Kawahara, K. Matsui, T. Osumi & T. Nakamatsu, (2007) Altered metabolic flux due to deletion of *odhA* causes L-glutamate overproduction in *Corynebacterium glutamicum*. *Applied and environmental microbiology* **73**: 1308-1319.
- Atkinson, M. R., T. A. Blauwkamp & A. J. Ninfa, (2002) Context-dependent functions of the PII and GlnK signal transduction proteins in *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology* **184**: 5364-5375.
- Austin, S. & R. Dixon, (1992) The prokaryotic enhancer binding protein NTRC has an ATPase activity which is phosphorylation and DNA dependent. *The EMBO journal* **11**: 2219-2228.
- Badis, G., E. T. Chan, H. van Bakel, L. Pena-Castillo, D. Tillo, K. Tsui, C. D. Carlson, A. J. Gossett, M. J. Hasinoff, C. L. Warren, M. Gebbia, S. Talukder, A. Yang, S. Mnaimneh, D. Terterov, D. Coburn, A. Li Yeo, Z. X. Yeo, N. D. Clarke, J. D. Lieb, A. Z. Ansari, C. Nislow & T. R. Hughes, (2008) A library of yeast transcription factor motifs reveals a widespread function for Rsc3 in targeting nucleosome exclusion at promoters. *Molecular cell* **32**: 878-887.
- Bagdasarian, M., R. Lurz, B. Ruckert, F. C. Franklin, M. M. Bagdasarian, J. Frey & K. N. Timmis, (1981) Specific-purpose plasmid cloning vectors. II. Broad host range, high copy number, RSF1010-derived vectors, and a host-vector system for gene cloning in *Pseudomonas*. *Gene* **16**: 237-247.
- Bailey, T. L., M. Boden, F. A. Buske, M. Frith, C. E. Grant, L. Clementi, J. Ren, W. W. Li & W. S. Noble, (2009) MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research* **37**: W202-208.
- Balasubramanian, D., H. Kumari, M. Jaric, M. Fernandez, K. H. Turner, S. L. Dove, G. Narasimhan, S. Lory & K. Mathee, (2013) Deep sequencing analyses expands the *Pseudomonas aeruginosa* AmpR regulon to include small RNA-mediated regulation of iron acquisition, heat shock and oxidative stress response. *Nucleic acids research*.
- Barrios, H., B. Valderrama & E. Morett, (1999) Compilation and analysis of sigma(54)-dependent promoter sequences. *Nucleic acids research* **27**: 4305-4313.
- Berkhout, B. & J. van Duin, (1985) Mechanism of translational coupling between coat protein and replicase genes of RNA bacteriophage MS2. *Nucleic acids research* **13**: 6955-6967.
- Blanka, A., S. Schulz, D. Eckweiler, R. Franke, A. Bielecka, T. Nicolai, F. Casilag, J. Duvel, W. R. Abraham, V. Kaever & S. Haussler, (2014) Identification of the Alternative Sigma Factor SigX Regulon and Its Implications for *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity. *Journal of bacteriology* **196**: 345-356.
- Bradford, M. M., (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* **72**: 248-254.
- Brown, T., K. Mackey & T. Du, (2004) Analysis of RNA by Northern and Slot Blot Hybridization. . *Current Protocols in Molecular Biology* **67**: 4.9.1-4.9.19.

- Browning, D. F. & S. J. Busby, (2004) The regulation of bacterial transcription initiation. *Nature reviews. Microbiology* **2**: 57-65.
- Buck, M., M. T. Gallegos, D. J. Studholme, Y. Guo & J. D. Gralla, (2000) The bacterial enhancer-dependent sigma(54) (sigma(N)) transcription factor. *Journal of bacteriology* **182**: 4129-4136.
- Butcher, B. G., P. A. Bronstein, C. R. Myers, P. V. Stodghill, J. J. Bolton, E. J. Markel, M. J. Filiatrault, B. Swingle, A. Gaballa, J. D. Helmann, D. J. Schneider & S. W. Cartinhour, (2011) Characterization of the Fur regulon in *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. *Journal of bacteriology* **193**: 4598-4611.
- Camacho, E. M. & J. Casadesus, (2005) Regulation of *traJ* transcription in the *Salmonella* virulence plasmid by strand-specific DNA adenine hemimethylation. *Molecular microbiology* **57**: 1700-1718.
- Cases, I., V. de Lorenzo & C. A. Ouzounis, (2003a) Transcription regulation and environmental adaptation in bacteria. *Trends in microbiology* **11**: 248-253.
- Cases, I., V. de Lorenzo & J. Perez-Martin, (1996) Involvement of sigma 54 in exponential silencing of the *Pseudomonas putida* TOL plasmid Pu promoter. *Molecular microbiology* **19**: 7-17.
- Cases, I., D. W. Ussery & V. de Lorenzo, (2003b) The sigma54 regulon (sigmulon) of *Pseudomonas putida*. *Environmental microbiology* **5**: 1281-1293.
- Cawley, S., S. Bekiranov, H. H. Ng, P. Kapranov, E. A. Sekinger, D. Kampa, A. Piccolboni, V. Sementchenko, J. Cheng, A. J. Williams, R. Wheeler, B. Wong, J. Drenkow, M. Yamanaka, S. Patel, S. Brubaker, H. Tammana, G. Helt, K. Struhl & T. R. Gingeras, (2004) Unbiased mapping of transcription factor binding sites along human chromosomes 21 and 22 points to widespread regulation of noncoding RNAs. *Cell* **116**: 499-509.
- Collier, D. N., P. W. Hager & P. V. Phibbs, Jr., (1996) Catabolite repression control in the *Pseudomonads*. *Res Microbiol* **147**: 551-561.
- Cserzo, M., E. Wallin, I. Simon, G. von Heijne & A. Elofsson, (1997) Prediction of transmembrane alpha-helices in prokaryotic membrane proteins: the dense alignment surface method. *Protein engineering* **10**: 673-676.
- Choi, K. H., A. Kumar & H. P. Schweizer, (2006) A 10-min method for preparation of highly electrocompetent *Pseudomonas aeruginosa* cells: application for DNA fragment transfer between chromosomes and plasmid transformation. *J Microbiol Methods* **64**: 391-397.
- Chung, C. T., S. L. Niemela & R. H. Miller, (1989) One-step preparation of competent *Escherichia coli*: transformation and storage of bacterial cells in the same solution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **86**: 2172-2175.
- D'Argenio, D. A., M. Wu, L. R. Hoffman, H. D. Kulasekara, E. Deziel, E. E. Smith, H. Nguyen, R. K. Ernst, T. J. Larson Freeman, D. H. Spencer, M. Brittnacher, H. S. Hayden, S. Selgrade, M. Klausen, D. R. Goodlett, J. L. Burns, B. W. Ramsey & S. I. Miller, (2007) Growth phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* *lasR* mutants adapted to the airways of cystic fibrosis patients. *Molecular microbiology* **64**: 512-533.
- Dagorn, A., A. Chapalain, L. Mijouin, M. Hillion, C. Duclairoir-Poc, S. Chevalier, L. Taupin, N. Orange & M. G. Feuilloley, (2013a) Effect of GABA, a Bacterial Metabolite, on *Pseudomonas fluorescens* Surface Properties and Cytotoxicity. *International journal of molecular sciences* **14**: 12186-12204.
- Dagorn, A., M. Hillion, A. Chapalain, O. Lesouhaitier, C. Duclairoir Poc, J. Vieillard, S. Chevalier, L. Taupin, F. Le Derf & M. G. Feuilloley, (2013b) Gamma-aminobutyric acid acts as a specific virulence regulator in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* **159**: 339-351.

- De Carlo, S., B. Chen, T. R. Hoover, E. Kondrashkina, E. Nogales & B. T. Nixon, (2006) The structural basis for regulated assembly and function of the transcriptional activator NtrC. *Genes & development* **20**: 1485-1495.
- Dominguez-Cuevas, P. & S. Marqués, (2004) Compiling sigma 70- dependent promoters. In: Pseudomonas. J. L. Ramos (ed). New York: Plenum Publisher, pp. 345-364.
- Duetz, W. A., S. Marques, C. de Jong, J. L. Ramos & J. G. van An del, (1994) Inducibility of the TOL catabolic pathway in Pseudomonas putida (pWWO) growing on succinate in continuous culture: evidence of carbon catabolite repression control. *Journal of bacteriology* **176**: 2354-2361.
- Duetz, W. A., S. Marques, B. Wind, J. L. Ramos & J. G. van An del, (1996) Catabolite repression of the toluene degradation pathway in Pseudomonas putida harboring pWWO under various conditions of nutrient limitation in chemostat culture. *Applied and environmental microbiology* **62**: 601-606.
- Dunn, N. W. & I. C. Gunsalus, (1973) Transmissible plasmid coding early enzymes of naphthalene oxidation in Pseudomonas putida. *Journal of bacteriology* **114**: 974-979.
- Dutta, R. & M. Inouye, (1996) Reverse phosphotransfer from OmpR to EnvZ in a kinase-/phosphatase+ mutant of EnvZ (EnvZ.N347D), a bifunctional signal transducer of Escherichia coli. *The Journal of biological chemistry* **271**: 1424-1429.
- Dutta, R., L. Qin & M. Inouye, (1999) Histidine kinases: diversity of domain organization. *Molecular microbiology* **34**: 633-640.
- Elliott, T. & E. P. Geiduschek, (1984) Defining a bacteriophage T4 late promoter: absence of a "-35" region. *Cell* **36**: 211-219.
- Feehily, C. & K. A. Karatzas, (2013) Role of glutamate metabolism in bacterial responses towards acid and other stresses. *Journal of applied microbiology* **114**: 11-24.
- Feng, J., M. R. Atkinson, W. McCleary, J. B. Stock, B. L. Wanner & A. J. Ninfa, (1992) Role of phosphorylated metabolic intermediates in the regulation of glutamine synthetase synthesis in Escherichia coli. *Journal of bacteriology* **174**: 6061-6070.
- Figurski, D. H. & D. R. Helinski, (1979) Replication of an origin-containing derivative of plasmid RK2 dependent on a plasmid function provided in trans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **76**: 1648-1652.
- Filiatrault, M. J., P. V. Stodghill, J. Wilson, B. G. Butcher, H. Chen, C. R. Myers & S. W. Cartinhour, (2013) CrcZ and CrcX regulate carbon source utilization in Pseudomonas syringae pathovar tomato strain DC3000. *RNA Biol* **10**.
- Fonseca, P., R. Moreno & F. Rojo, (2013) Pseudomonas putida growing at low temperature shows increased levels of CrcZ and CrcY sRNAs, leading to reduced Crc-dependent catabolite repression. *Environmental microbiology* **15**: 24-35.
- Franklin, F. C., M. Bagdasarian, M. M. Bagdasarian & K. N. Timmis, (1981) Molecular and functional analysis of the TOL plasmid pWWO from Pseudomonas putida and cloning of genes for the entire regulated aromatic ring meta cleavage pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **78**: 7458-7462.
- Frimmersdorf, E., S. Horatzek, A. Pelnikovich, L. Wiehlmann & D. Schomburg, (2010) How Pseudomonas aeruginosa adapts to various environments: a metabolomic approach. *Environmental microbiology* **12**: 1734-1747.
- Frisch, R. L. & R. A. Bender, (2010) An Expanded Role for the Nitrogen Assimilation Control protein (NAC) in the Response of Klebsiella pneumoniae to Nitrogen Stress. *Journal of bacteriology* **Published online ahead of print.**

- Furey, T. S., (2012) ChIP-seq and beyond: new and improved methodologies to detect and characterize protein-DNA interactions. *Nature reviews. Genetics* **13**: 840-852.
- Galperin, M. Y., (2005) A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: bacterial IQ, extroverts and introverts. *BMC Microbiol* **5**: 35.
- Galperin, M. Y., (2006) Structural classification of bacterial response regulators: diversity of output domains and domain combinations. *Journal of bacteriology* **188**: 4169-4182.
- Galperin, M. Y., (2010) Diversity of structure and function of response regulator output domains. *Current opinion in microbiology* **13**: 150-159.
- Gao, R., T. R. Mack & A. M. Stock, (2007) Bacterial response regulators: versatile regulatory strategies from common domains. *Trends in biochemical sciences* **32**: 225-234.
- Garcia-Gonzalez, V., F. Govantes, O. Porrua & E. Santero, (2005) Regulation of the *Pseudomonas* sp. strain ADP cyanuric acid degradation operon. *Journal of bacteriology* **187**: 155-167.
- Garcia-Maurino, S. M., I. Perez-Martinez, C. I. Amador, I. Canosa & E. Santero, (2013) Transcriptional activation of the CrcZ and CrcY regulatory RNAs by the CbrB response regulator in *Pseudomonas putida*. *Molecular microbiology*.
- Garcia, L. L., E. Rivas-Marin, B. Floriano, R. Bernhardt, K. M. Ewen, F. Reyes-Ramirez & E. Santero, (2011) ThnY is a ferredoxin reductase-like iron-sulfur flavoprotein that has evolved to function as a regulator of tetralin biodegradation gene expression. *The Journal of biological chemistry* **286**: 1709-1718.
- Geissmann, T. A. & D. Touati, (2004) Hfq, a new chaperoning role: binding to messenger RNA determines access for small RNA regulator. *The EMBO journal* **23**: 396-405.
- Gilbert, K. B., T. H. Kim, R. Gupta, E. P. Greenberg & M. Schuster, (2009) Global position analysis of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing transcription factor LasR. *Molecular microbiology* **73**: 1072-1085.
- Gilles-Gonzalez, M. A., A. I. Caceres, E. H. Sousa, D. R. Tomchick, C. Brautigam, C. Gonzalez & M. Machius, (2006) A proximal arginine R206 participates in switching of the *Bradyrhizobium japonicum* FixL oxygen sensor. *Journal of molecular biology* **360**: 80-89.
- Gorke, B. & J. Stulke, (2008) Carbon catabolite repression in bacteria: many ways to make the most out of nutrients. *Nature reviews. Microbiology* **6**: 613-624.
- Govantes, F., E. Andujar & E. Santero, (1998) Mechanism of translational coupling in the nifLA operon of *Klebsiella pneumoniae*. *The EMBO journal* **17**: 2368-2377.
- Govantes, F., J. A. Molina-Lopez & E. Santero, (1996) Mechanism of coordinated synthesis of the antagonistic regulatory proteins NifL and NifA of *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of bacteriology* **178**: 6817-6823.
- Govantes, F. & E. Santero, (1996) Transcription termination within the regulatory nifLA operon of *Klebsiella pneumoniae*. *Molecular & general genetics : MGG* **250**: 447-454.
- Grainger, D. C., H. Aiba, D. Hurd, D. F. Browning & S. J. Busby, (2007) Transcription factor distribution in *Escherichia coli*: studies with FNR protein. *Nucleic acids research* **35**: 269-278.
- Grainger, D. C., T. W. Overton, N. Reppas, J. T. Wade, E. Tamai, J. L. Hobman, C. Constantinidou, K. Struhl, G. Church & S. J. Busby, (2004) Genomic studies with *Escherichia coli* MelR protein: applications of chromatin immunoprecipitation and microarrays. *Journal of bacteriology* **186**: 6938-6943.
- Haas, D. & G. Defago, (2005) Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature reviews. Microbiology* **3**: 307-319.
- Hajnsdorf, E. & I. V. Boni, (2012) Multiple activities of RNA-binding proteins S1 and Hfq. *Biochimie* **94**: 1544-1553.

- Hanahan, D., (1983) Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Journal of molecular biology* **166**: 557-580.
- Hase, C. C., N. D. Fedorova, M. Y. Galperin & P. A. Dibrov, (2001) Sodium ion cycle in bacterial pathogens: evidence from cross-genome comparisons. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* **65**: 353-370, table of contents.
- Heckman, K. L. & L. R. Pease, (2007) Gene splicing and mutagenesis by PCR-driven overlap extension. *Nature protocols* **2**: 924-932.
- Herrero, M., V. de Lorenzo & K. N. Timmis, (1990) Transposon vectors containing non-antibiotic resistance selection markers for cloning and stable chromosomal insertion of foreign genes in gram-negative bacteria. *Journal of bacteriology* **172**: 6557-6567.
- Hervas, A. B., I. Canosa, R. Little, R. Dixon & E. Santero, (2009) NtrC-dependent regulatory network for nitrogen assimilation in *Pseudomonas putida*. *Journal of bacteriology* **191**: 6123-6135.
- Hervas, A. B., I. Canosa & E. Santero, (2008) Transcriptome analysis of *Pseudomonas putida* in response to nitrogen availability. *Journal of bacteriology* **190**: 416-420.
- Hervas, A. B., I. Canosa & E. Santero, (2010) Regulation of glutamate dehydrogenase expression in *Pseudomonas putida* results from its direct repression by NtrC under nitrogen-limiting conditions. *Molecular microbiology* **78**: 305-319.
- Hess, J. F., R. B. Bourret & M. I. Simon, (1988) Histidine phosphorylation and phosphoryl group transfer in bacterial chemotaxis. *Nature* **336**: 139-143.
- Hester, K. L., K. T. Madhusudhan & J. R. Sokatch, (2000) Catabolite repression control by *crc* in 2xYT medium is mediated by posttranscriptional regulation of *bkdR* expression in *Pseudomonas putida*. *Journal of bacteriology* **182**: 1150-1153.
- Hoang, T. T., R. R. Karkhoff-Schweizer, A. J. Kutchma & H. P. Schweizer, (1998) A broad-host-range Flp-FRT recombination system for site-specific excision of chromosomally-located DNA sequences: application for isolation of unmarked *Pseudomonas aeruginosa* mutants. *Gene* **212**: 77-86.
- Hoover, T. R., E. Santero, S. Porter & S. Kustu, (1990) The integration host factor stimulates interaction of RNA polymerase with NIFA, the transcriptional activator for nitrogen fixation operons. *Cell* **63**: 11-22.
- Hugenholtz, P., C. Pitulle, K. L. Hershberger & N. R. Pace, (1998) Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. *Journal of bacteriology* **180**: 366-376.
- Humair, B., N. Gonzalez, D. Mossialos, C. Reimann & D. Haas, (2009) Temperature-responsive sensing regulates biocontrol factor expression in *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *The ISME journal* **3**: 955-965.
- Humair, B., B. Wackwitz & D. Haas, (2010) GacA-controlled activation of promoters for small RNA genes in *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology* **76**: 1497-1506.
- Inoue, H., H. Nojima & H. Okayama, (1990) High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene* **96**: 23-28.
- Itoh, Y., T. Nishijyo & Y. Nakada, (2007) Histidine Catabolism and Catabolite Regulation. In: *Pseudomonas*. J.-L. Ramos & A. Filloux (eds). Springer Netherlands, pp. 371-395.
- Jatsenko, T., A. Tover, R. Tegova & M. Kivisaar, (2010) Molecular characterization of Rif(r) mutations in *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida*. *Mutation research* **683**: 106-114.
- Johansson, L. U., D. Solera, L. M. Bernardo, J. A. Moscoso & V. Shingler, (2008) sigma54-RNA polymerase controls sigma70-dependent transcription from a non-overlapping divergent promoter. *Molecular microbiology* **70**: 709-723.

- Jung, H., (2001) Towards the molecular mechanism of Na(+)/solute symport in prokaryotes. *Biochimica et biophysica acta* **1505**: 131-143.
- Jung, H., (2002) The sodium/substrate symporter family: structural and functional features. *FEBS letters* **529**: 73-77.
- Kahramanoglou, C., A. S. Seshasayee, A. I. Prieto, D. Ibberson, S. Schmidt, J. Zimmermann, V. Benes, G. M. Fraser & N. M. Luscombe, (2011) Direct and indirect effects of H-NS and Fis on global gene expression control in Escherichia coli. *Nucleic acids research* **39**: 2073-2091.
- Kanamaru, K., H. Aiba, S. Mizushima & T. Mizuno, (1989) Signal transduction and osmoregulation in Escherichia coli. A single amino acid change in the protein kinase, EnvZ, results in loss of its phosphorylation and dephosphorylation abilities with respect to the activator protein, OmpR. *The Journal of biological chemistry* **264**: 21633-21637.
- Kastelein, R. A., B. Berkhout & J. van Duin, (1983) Opening the closed ribosome-binding site of the lysis cistron of bacteriophage MS2. *Nature* **305**: 741-743.
- Kay, E., C. Dubuis & D. Haas, (2005) Three small RNAs jointly ensure secondary metabolism and biocontrol in Pseudomonas fluorescens CHA0. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 17136-17141.
- Kay, E., B. Humair, V. Denervaud, K. Riedel, S. Spahr, L. Eberl, C. Valverde & D. Haas, (2006) Two GacA-dependent small RNAs modulate the quorum-sensing response in Pseudomonas aeruginosa. *Journal of bacteriology* **188**: 6026-6033.
- Kharchenko, P. V., M. Y. Tolstorukov & P. J. Park, (2008) Design and analysis of ChIP-seq experiments for DNA-binding proteins. *Nature biotechnology* **26**: 1351-1359.
- Kill, K., T. T. Binnewies, T. Sicheritz-Ponten, H. Willenbrock, P. F. Hallin, T. M. Wassenaar & D. W. Ussery, (2005) Genome update: sigma factors in 240 bacterial genomes. *Microbiology* **151**: 3147-3150.
- Krell, T., J. Lacal, A. Busch, H. Silva-Jiménez, M.-E. Guazzaroni & J. L. Ramos, (2010) Bacterial Sensor Kinases: Diversity in the Recognition of Environmental Signals. *Annual review of microbiology* **64**: 539-559.
- La Rosa, R., F. de la Pena, M. A. Prieto & F. Rojo, (2014) The Crc protein inhibits the production of polyhydroxyalkanoates in Pseudomonas putida under balanced carbon/nitrogen growth conditions. *Environmental microbiology* **16**: 278-290.
- Laemmli, U. K., (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.
- Lambertsen, L., C. Sternberg & S. Molin, (2004) Mini-Tn7 transposons for site-specific tagging of bacteria with fluorescent proteins. *Environmental microbiology* **6**: 726-732.
- Lapouge, K., M. Schubert, F. H. Allain & D. Haas, (2008) Gac/Rsm signal transduction pathway of gamma-proteobacteria: from RNA recognition to regulation of social behaviour. *Molecular microbiology* **67**: 241-253.
- Laub, M. T., S. L. Chen, L. Shapiro & H. H. McAdams, (2002) Genes directly controlled by CtrA, a master regulator of the Caulobacter cell cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 4632-4637.
- Lee, J., J. T. Owens, I. Hwang, C. Meares & S. Kustu, (2000) Phosphorylation-induced signal propagation in the response regulator ntrC. *Journal of bacteriology* **182**: 5188-5195.
- Li, W. & C. D. Lu, (2007) Regulation of carbon and nitrogen utilization by CbrAB and NtrBC two-component systems in Pseudomonas aeruginosa. *Journal of bacteriology* **189**: 5413-5420.
- Linares, J. F., R. Moreno, A. Fajardo, L. Martinez-Solano, R. Escalante, F. Rojo & J. L. Martinez, (2010) The global regulator Crc modulates metabolism, susceptibility to antibiotics and virulence in Pseudomonas aeruginosa. *Environmental microbiology* **12**: 3196-3212.

- Liu, P., (1952) Utilization of carbohydrates by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology* **64**: 773-781.
- Lonetto, M., M. Gribskov & C. A. Gross, (1992) The sigma 70 family: sequence conservation and evolutionary relationships. *Journal of bacteriology* **174**: 3843-3849.
- Lopez-Sanchez, A., A. Jimenez-Fernández, P. Calero, L. D. Gallego & F. Govantes, (2013) New methods for the isolation and characterization of biofilm-persistent mutants in *Pseudomonas putida*. *Env. Microb. Reports* **in press**.
- Lovdok, L., K. Bentele, N. Vladimirov, A. Muller, F. S. Pop, D. Lebiedz, M. Kollmann & V. Sourjik, (2009) Role of translational coupling in robustness of bacterial chemotaxis pathway. *PLoS biology* **7**: e1000171.
- Lugtenberg, B. J. & L. C. Dekkers, (1999) What makes *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent? *Environmental microbiology* **1**: 9-13.
- Lun, D. S., A. Sherrid, B. Weiner, D. R. Sherman & J. E. Galagan, (2009) A blind deconvolution approach to high-resolution mapping of transcription factor binding sites from ChIP-seq data. *Genome biology* **10**: R142.
- Mandelbaum, R. T., L. P. Wackett & D. L. Allan, (1993) Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures. *Applied and environmental microbiology* **59**: 1695-1701.
- Mao, F., P. Dam, J. Chou, V. Olman & Y. Xu, (2009) DOOR: a database for prokaryotic operons. *Nucleic acids research* **37**: D459-463.
- Mardis, E. R., (2007) ChIP-seq: welcome to the new frontier. *Nature methods* **4**: 613-614.
- Marques, S., M. T. Gallegos, M. Manzanera, A. Holtel, K. N. Timmis & J. L. Ramos, (1998) Activation and repression of transcription at the double tandem divergent promoters for the xylR and xylS genes of the TOL plasmid of *Pseudomonas putida*. *Journal of bacteriology* **180**: 2889-2894.
- Martinez-Perez, O., E. Moreno-Ruiz, B. Floriano & E. Santero, (2004) Regulation of tetralin biodegradation and identification of genes essential for expression of thn operons. *Journal of bacteriology* **186**: 6101-6109.
- Mascher, T., J. D. Helmann & G. Unden, (2006) Stimulus perception in bacterial signal-transducing histidine kinases. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* **70**: 910-938.
- Merrick, M. J., (1993) In a class of its own--the RNA polymerase sigma factor sigma 54 (sigma N). *Molecular microbiology* **10**: 903-909.
- Merrick, M. J. & R. A. Edwards, (1995) Nitrogen control in bacteria. *Microbiological reviews* **59**: 604-622.
- Mikkelsen, T. S., M. Ku, D. B. Jaffe, B. Issac, E. Lieberman, G. Giannoukos, P. Alvarez, W. Brockman, T. K. Kim, R. P. Koche, W. Lee, E. Mendenhall, A. O'Donovan, A. Presser, C. Russ, X. Xie, A. Meissner, M. Wernig, R. Jaenisch, C. Nusbaum, E. S. Lander & B. E. Bernstein, (2007) Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature* **448**: 553-560.
- Milojevic, T., I. Grishkovskaya, E. Sonnleitner, K. Djinovic-Carugo & U. Blasi, (2013) The *Pseudomonas aeruginosa* catabolite repression control protein Crc is devoid of RNA binding activity. *PloS one* **8**: e64609.
- Miller, J. H., (1992) *A short course in bacterial genetics: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring harbor, N. Y.
- Miller, W. G., J. H. Leveau & S. E. Lindow, (2000) Improved gfp and inaZ broad-host-range promoter-probe vectors. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI* **13**: 1243-1250.

- Moller, T., T. Franch, P. Hojrup, D. R. Keene, H. P. Bachinger, R. G. Brennan & P. Valentin-Hansen, (2002) Hfq: a bacterial Sm-like protein that mediates RNA-RNA interaction. *Molecular cell* **9**: 23-30.
- Moreno, R., P. Fonseca & F. Rojo, (2010) The Crc global regulator inhibits the *Pseudomonas putida* pWW0 toluene/xylene assimilation pathway by repressing the translation of regulatory and structural genes. *The Journal of biological chemistry* **285**: 24412-24419.
- Moreno, R., P. Fonseca & F. Rojo, (2012) Two small RNAs, CrcY and CrcZ, act in concert to sequester the Crc global regulator in *Pseudomonas putida*, modulating catabolite repression. *Molecular microbiology* **83**: 24-40.
- Moreno, R., S. Marzi, P. Romby & F. Rojo, (2009) The Crc global regulator binds to an unpaired A-rich motif at the *Pseudomonas putida* alkS mRNA coding sequence and inhibits translation initiation. *Nucleic acids research* **37**: 7678-7690.
- Moreno, R. & F. Rojo, (2008) The target for the *Pseudomonas putida* Crc global regulator in the benzoate degradation pathway is the BenR transcriptional regulator. *Journal of bacteriology* **190**: 1539-1545.
- Moreno, R., A. Ruiz-Manzano, L. Yuste & F. Rojo, (2007) The *Pseudomonas putida* Crc global regulator is an RNA binding protein that inhibits translation of the AlkS transcriptional regulator. *Molecular microbiology* **64**: 665-675.
- Morett, E. & L. Segovia, (1993) The sigma 54 bacterial enhancer-binding protein family: mechanism of action and phylogenetic relationship of their functional domains. *Journal of bacteriology* **175**: 6067-6074.
- Nakazawa, T., (2002) Travels of a *Pseudomonas*, from Japan around the world. *Environmental microbiology* **4**: 782-786.
- Ninfa, A. J. & R. L. Bennett, (1991) Identification of the site of autophosphorylation of the bacterial protein kinase/phosphatase NRII. *The Journal of biological chemistry* **266**: 6888-6893.
- Ninfa, A. J. & B. Magasanik, (1986) Covalent modification of the glnG product, NRI, by the glnL product, NRII, regulates the transcription of the glnALG operon in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **83**: 5909-5913.
- Ninfa, E. G., M. R. Atkinson, E. S. Kamberov & A. J. Ninfa, (1993) Mechanism of autophosphorylation of *Escherichia coli* nitrogen regulator II (NRII or NtrB): trans-phosphorylation between subunits. *Journal of bacteriology* **175**: 7024-7032.
- Nishijyo, T., D. Haas & Y. Itoh, (2001) The CbrA-CbrB two-component regulatory system controls the utilization of multiple carbon and nitrogen sources in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular microbiology* **40**: 917-931.
- North, A. K., K. E. Klose, K. M. Stedman & S. Kustu, (1993) Prokaryotic enhancer-binding proteins reflect eukaryote-like modularity: the puzzle of nitrogen regulatory protein C. *Journal of bacteriology* **175**: 4267-4273.
- Ozcan, S., J. Dover & M. Johnston, (1998) Glucose sensing and signaling by two glucose receptors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *The EMBO journal* **17**: 2566-2573.
- Paget, M. S. & J. D. Helmann, (2003) The sigma70 family of sigma factors. *Genome biology* **4**: 203.
- Palleroni, N. J. & E. R. Moore, (2004) Taxonomy of Pseudomonads: experimental approaches. In: *Pseudomonas*. J. L. Ramos (ed). New York: Kluwer Academic, pp. 3-44.
- Park, D. H., R. Mirabella, P. A. Bronstein, G. M. Preston, M. A. Haring, C. K. Lim, A. Collmer & R. C. Schuurink, (2010) Mutations in gamma-aminobutyric acid (GABA) transaminase genes in plants or *Pseudomonas syringae* reduce bacterial virulence. *The Plant journal : for cell and molecular biology* **64**: 318-330.

- Parkinson, J. S., (1993) Signal transduction schemes of bacteria. *Cell* **73**: 857-871.
- Parkinson, J. S. & E. C. Kofoed, (1992) Communication modules in bacterial signaling proteins. *Annual review of genetics* **26**: 71-112.
- Paulsen, I. T., C. M. Press, J. Ravel, D. Y. Kobayashi, G. S. Myers, D. V. Mavrodi, R. T. DeBoy, R. Seshadri, Q. Ren, R. Madupu, R. J. Dodson, A. S. Durkin, L. M. Brinkac, S. C. Daugherty, S. A. Sullivan, M. J. Rosovitz, M. L. Gwinn, L. Zhou, D. J. Schneider, S. W. Cartinhour, W. C. Nelson, J. Weidman, K. Watkins, K. Tran, H. Khouri, E. A. Pierson, L. S. Pierson, 3rd, L. S. Thomashow & J. E. Loper, (2005) Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Nature biotechnology* **23**: 873-878.
- Perez-Martin, J. & V. De Lorenzo, (1995) Integration host factor suppresses promiscuous activation of the sigma 54-dependent promoter Pu of *Pseudomonas putida*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**: 7277-7281.
- Perkins, T. T., M. R. Davies, E. J. Klemm, G. Rowley, T. Wileman, K. James, T. Keane, D. Maskell, J. C. Hinton, G. Dougan & R. A. Kingsley, (2013) ChIP-seq and transcriptome analysis of the OmpR regulon of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Typhimurium reveals accessory genes implicated in host colonization. *Molecular microbiology* **87**: 526-538.
- Platero, A. I., M. Garcia-Jaramillo, E. Santero & F. Govantes, (2012) Transcriptional organization and regulatory elements of a *Pseudomonas* sp. strain ADP operon encoding a LysR-type regulator and a putative solute transport system. *Journal of bacteriology* **194**: 6560-6573.
- Porrua, O., V. Garcia-Gonzalez, E. Santero, V. Shingler & F. Govantes, (2009) Activation and repression of a sigmaN-dependent promoter naturally lacking upstream activation sequences. *Molecular microbiology* **73**: 419-433.
- Porrua, O., M. Garcia-Jaramillo, E. Santero & F. Govantes, (2007) The LysR-type regulator AtzR binding site: DNA sequences involved in activation, repression and cyanuric acid-dependent repositioning. *Molecular microbiology* **66**: 410-427.
- Porrua, O., A. I. Platero, E. Santero, G. Del Solar & F. Govantes, (2010) Complex interplay between the LysR-type regulator AtzR and its binding site mediates atzDEF activation in response to two distinct signals. *Molecular microbiology* **76**: 331-347.
- Porter, S. C., A. K. North, A. B. Wedel & S. Kustu, (1993) Oligomerization of NTRC at the glnA enhancer is required for transcriptional activation. *Genes & development* **7**: 2258-2273.
- Praszkier, J., I. W. Wilson & A. J. Pittard, (1992) Mutations affecting translational coupling between the rep genes of an IncB miniplasmid. *Journal of bacteriology* **174**: 2376-2383.
- Ramos, J. L., E. Duque, M. T. Gallegos, P. Godoy, M. I. Ramos-Gonzalez, A. Rojas, W. Teran & A. Segura, (2002) Mechanisms of solvent tolerance in gram-negative bacteria. *Annual review of microbiology* **56**: 743-768.
- Rashid, M. H. & A. Kornberg, (2000) Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming, and twitching motilities of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 4885-4890.
- Reitzer, L., (2003) Nitrogen assimilation and global regulation in *Escherichia coli*. *Annual review of microbiology* **57**: 155-176.
- Reitzer, L. J. & B. Magasanik, (1986) Transcription of glnA in *E. coli* is stimulated by activator bound to sites far from the promoter. *Cell* **45**: 785-792.
- Reva, O. N., C. Weinel, M. Weinel, K. Bohm, D. Stjepandic, J. D. Hoheisel & B. Tummeler, (2006) Functional genomics of stress response in *Pseudomonas putida* KT2440. *Journal of bacteriology* **188**: 4079-4092.
- Rhee, H. S. & B. F. Pugh, (2011) Comprehensive genome-wide protein-DNA interactions detected at single-nucleotide resolution. *Cell* **147**: 1408-1419.

- Rheinwald, J. G., A. M. Chakrabarty & I. C. Gunsalus, (1973) A transmissible plasmid controlling camphor oxidation in *Pseudomonas putida*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **70**: 885-889.
- Robleto, E. A., I. Lopez-Hernandez, M. W. Silby & S. B. Levy, (2003) Genetic analysis of the AdnA regulon in *Pseudomonas fluorescens*: nonessential role of flagella in adhesion to sand and biofilm formation. *Journal of bacteriology* **185**: 453-460.
- Rojo, F., (2010) Carbon catabolite repression in *Pseudomonas* : optimizing metabolic versatility and interactions with the environment. *FEMS Microbiol Rev* **34**: 658-684.
- Rojo, F. & M. A. Dinamarca, (2004) Catabolite repression and physiological control. In: *Virulence and Gene Regulation*. Springer, pp. 365-387.
- Rossmann, M. G., D. Moras & K. W. Olsen, (1974) Chemical and biological evolution of nucleotide-binding protein. *Nature* **250**: 194-199.
- Ruiz-Manzano, A., L. Yuste & F. Rojo, (2005) Levels and activity of the *Pseudomonas putida* global regulatory protein Crc vary according to growth conditions. *Journal of bacteriology* **187**: 3678-3686.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis, (2000) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.
- Sanders, D. A., B. L. Gillece-Castro, A. L. Burlingame & D. E. Koshland, Jr., (1992) Phosphorylation site of NtrC, a protein phosphatase whose covalent intermediate activates transcription. *Journal of bacteriology* **174**: 5117-5122.
- Santero, E., T. R. Hoover, A. K. North, D. K. Berger, S. C. Porter & S. Kustu, (1992) Role of integration host factor in stimulating transcription from the sigma 54-dependent nifH promoter. *Journal of molecular biology* **227**: 602-620.
- Santero, E., A. B. Hervas, I. Canosa and F. Govantes, (2012) Glutamate Dehydrogenases: Enzymology, Physiological Role and Biotechnological Relevance. In: *Dehydrogenases*. R. A. Canuto (ed). Rijeka, Croatia: INTECH, pp. 289-318.
- Sasse-Dwight, S. & J. D. Gralla, (1988) Probing the *Escherichia coli* glnALG upstream activation mechanism in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **85**: 8934-8938.
- Schmidt, D., M. D. Wilson, C. Spyrou, G. D. Brown, J. Hadfield & D. T. Odom, (2009) ChIP-seq: using high-throughput sequencing to discover protein-DNA interactions. *Methods* **48**: 240-248.
- Schumacher, J., V. Behrends, Z. Pan, D. R. Brown, F. Heydenreich, M. R. Lewis, M. H. Bennett, B. Razzaghi, M. Komorowski, M. Barahona, M. P. Stumpf, S. Wigneshweraraj, J. G. Bundy & M. Buck, (2013) Nitrogen and carbon status are integrated at the transcriptional level by the nitrogen regulator NtrC in vivo. *mBio* **4**: e00881-00813.
- Schumperli, D., K. McKenney, D. A. Sobieski & M. Rosenberg, (1982) Translational coupling at an intercistronic boundary of the *Escherichia coli* galactose operon. *Cell* **30**: 865-871.
- Shirai, T., K. Fujimura, C. Furusawa, K. Nagahisa, S. Shioya & H. Shimizu, (2007) Study on roles of anaplerotic pathways in glutamate overproduction of *Corynebacterium glutamicum* by metabolic flux analysis. *Microbial cell factories* **6**: 19.
- Smyth, P. F. & P. H. Clarke, (1975) Catabolite repression of *Pseudomonas aeruginosa* amidase: the effect of carbon source on amidase synthesis. *Journal of general microbiology* **90**: 81-90.
- Soga, T., Y. Ohashi, Y. Ueno, H. Naraoka, M. Tomita & T. Nishioka, (2003) Quantitative metabolome analysis using capillary electrophoresis mass spectrometry. *Journal of proteome research* **2**: 488-494.

- Sonnleitner, E., L. Abdou & D. Haas, (2009) Small RNA as global regulator of carbon catabolite repression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 21866-21871.
- Sonnleitner, E. & D. Haas, (2011) Small RNAs as regulators of primary and secondary metabolism in *Pseudomonas* species. *Appl Microbiol Biotechnol* **91**: 63-79.
- Sonnleitner, E., M. Schuster, T. Sorger-Domenigg, E. P. Greenberg & U. Blasi, (2006) Hfq-dependent alterations of the transcriptome profile and effects on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular microbiology* **59**: 1542-1558.
- Sonnleitner, E., M. Valentini, N. Wenner, F. Z. Haichar, D. Haas & K. Lapouge, (2012) Novel targets of the CbrAB/Crc carbon catabolite control system revealed by transcript abundance in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS one* **7**: e44637.
- Stephen, D., C. Jones & J. P. Schofield, (1990) A rapid method for isolating high quality plasmid DNA suitable for DNA sequencing. *Nucleic acids research* **18**: 7463-7464.
- Takeuchi, K., K. Yamada & D. Haas, (2012) ppGpp controlled by the Gac/Rsm regulatory pathway sustains biocontrol activity in *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI* **25**: 1440-1449.
- Timmis, K. N., (2002) *Pseudomonas putida*: a cosmopolitan opportunist par excellence. *Environmental microbiology* **4**: 779-781.
- Valentini, M., N. Storelli & K. Lapouge, (2011) Identification of C4-Dicarboxylate Transport Systems in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of bacteriology* **193**: 4307-4316.
- van de Guchte, M., J. Kok & G. Venema, (1991) Distance-dependent translational coupling and interference in *Lactococcus lactis*. *Molecular & general genetics : MGG* **227**: 65-71.
- Vogel, J. & B. F. Luisi, (2011) Hfq and its constellation of RNA. *Nature reviews. Microbiology* **9**: 578-589.
- Walter, J. & M. D. Biggin, (1996) DNA binding specificity of two homeodomain proteins in vitro and in *Drosophila* embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**: 2680-2685.
- Wassem, R., E. M. De Souza, M. G. Yates, F. D. Pedrosa & M. Buck, (2000) Two roles for integration host factor at an enhancer-dependent *nifA* promoter. *Molecular microbiology* **35**: 756-764.
- Weinel, C., D. W. Ussery, H. Ohlsson, T. Sicheritz-Ponten, C. Kiewitz & B. Tümmler, (2002) Comparative Genomics of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and *Pseudomonas putida* KT2440: Orthologs, Codon Usage, Repetitive Extragenic Palindromic Elements, and Oligonucleotide Motif Signatures. *Genome Letters* **1**: 175-187.
- Weiss, D. S., J. Batut, K. E. Klose, J. Keener & S. Kustu, (1991) The phosphorylated form of the enhancer-binding protein NTRC has an ATPase activity that is essential for activation of transcription. *Cell* **67**: 155-167.
- Whitworth, D. E. & P. J. Cock, (2009) Evolution of prokaryotic two-component systems: insights from comparative genomics. *Amino Acids* **37**: 459-466.
- Wigneshweraraj, S., D. Bose, P. C. Burrows, N. Joly, J. Schumacher, M. Rappas, T. Pape, X. Zhang, P. Stockley, K. Severinov & M. Buck, (2008) Modus operandi of the bacterial RNA polymerase containing the sigma54 promoter-specificity factor. *Molecular microbiology* **68**: 538-546.
- Williams, P. A. & K. Murray, (1974) Metabolism of benzoate and the methylbenzoates by *Pseudomonas putida* (arvilla) mt-2: evidence for the existence of a TOL plasmid. *Journal of bacteriology* **120**: 416-423.

- Wolanin, P. M., P. A. Thomason & J. B. Stock, (2002) Histidine protein kinases: key signal transducers outside the animal kingdom. *Genome biology* **3**: REVIEWS3013.
- Wyman, C., I. Rombel, A. K. North, C. Bustamante & S. Kustu, (1997) Unusual oligomerization required for activity of NtrC, a bacterial enhancer-binding protein. *Science* **275**: 1658-1661.
- Yang, Y. & M. Inouye, (1993) Requirement of both kinase and phosphatase activities of an Escherichia coli receptor (Taz1) for ligand-dependent signal transduction. *Journal of molecular biology* **231**: 335-342.
- Yeung, A. T., M. Bains & R. E. Hancock, (2011) The sensor kinase CbrA is a global regulator that modulates metabolism, virulence, and antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. *Journal of bacteriology* **193**: 918-931.
- Yuste, L., A. B. Hervás, I. Canosa, R. Tobes, J. I. Jimenez, J. Nogales, M. M. Perez-Perez, E. Santero, E. Diaz, J. L. Ramos, V. de Lorenzo & F. Rojo, (2006) Growth phase-dependent expression of the Pseudomonas putida KT2440 transcriptional machinery analysed with a genome-wide DNA microarray. *Environmental microbiology* **8**: 165-177.
- Yuste, L. & F. Rojo, (2001) Role of the crc gene in catabolic repression of the Pseudomonas putida GPo1 alkane degradation pathway. *Journal of bacteriology* **183**: 6197-6206.
- Zhang, A., K. M. Wassarman, C. Rosenow, B. C. Tjaden, G. Storz & S. Gottesman, (2003) Global analysis of small RNA and mRNA targets of Hfq. *Molecular microbiology* **50**: 1111-1124.
- Zhang, X., M. Chaney, S. R. Wigneshweraraj, J. Schumacher, P. Bordes, W. Cannon & M. Buck, (2002) Mechanochemical ATPases and transcriptional activation. *Molecular microbiology* **45**: 895-903.
- Zhang, X. X., Y. H. Liu & P. B. Rainey, (2010) CbrAB-dependent regulation of pcnB, a poly(A) polymerase gene involved in polyadenylation of RNA in Pseudomonas fluorescens. *Environmental microbiology* **12**: 1674-1683.
- Zhang, X. X. & P. B. Rainey, (2007) Genetic analysis of the histidine utilization (hut) genes in Pseudomonas fluorescens SBW25. *Genetics* **176**: 2165-2176.
- Zhang, X. X. & P. B. Rainey, (2008) Dual involvement of CbrAB and NtrBC in the regulation of histidine utilization in Pseudomonas fluorescens SBW25. *Genetics* **178**: 185-195.

Peak #	chr	Coordinate start	Coordinate end	PP number	Putative gene/ function	length	summit	Summit coordinate	tags
1	chr1	4627744	4631511	PP4092-4095	ISPpu15 (transposase Orf1)- rhs domain protein ,- hypothetical proteir	3768	523	4628267	6117
2	chr1	5336016	5339232	PP4696-4698	cbrB (Fis family transcriptional regulator)- crcZ (sRNA)- pcnB (poly(A))	3217	2471	5338487	5150
3	chr1	5028489	5033017	PP4432-4436	M24 peptidase family- MFS amino acid transporter- dadA1 (D-amino a	4529	3138	5031627	6814
4	chr1	1626576	1629929	PP1426-1430	nadB(L-aspartate oxidase)- algU (RNA polymerase sigma factor AlgU	3354	1832	1628408	5007
5	chr1	5602336	5605250	PP4924-4926	serine protease - hypothetical protein- secretion protein HlyD	2915	1750	5604086	4294
6	chr1	3447406	3451182	PP3067-3069	hypothetical protein- hypothetical protein- outer membrane autotranspr	3777	951	3448357	5539
7	chr1	6149390	6153053	PP5394-5396	hypothetical protein- hypothetical protein- ISPpu14 (transposase orf3)	3664	1592	6150982	5323
8	chr1	5101262	5103872	PP4489-4492	phhR (transcriptional regulator)- phhA (phenylalanine 4-monooxygenase)	2611	738	5102000	3793
9	chr1	2597945	2600532	PP2276-2279	Phage exonuclease- hypothetical protein- hypothetical protein- binding	2588	1073	2599018	3745
10	chr1	3935711	3939331	PP3468-3472	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothe	3621	2666	3938377	5238
11	chr1	898119	900797	PP0781-0785	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothe	2679	1978	900097	3851
12	chr1	3514469	3516476	PP3108	rhs like protein	2008	1299	3515768	2876
13	chr1	1493886	1497671	PP1306-1310	pyocin S-type Killer domain-containing protein- AsnC family transcriptic	3786	1781	1495667	5348
14	chr1	4587434	4589878	PP4063-4065	AMP binding protein- ivd (acyl-CoA dehydrogenase)- propionyl-CoA c	2445	872	4588306	3415
15	chr1	38166	41068	PP0034-0037	ribonuclease III- GtrA family protein- LysR transcriptional regulator- pl	2903	1031	39197	4017
16	chr1	2344079	2346899	PP2060-2064	SoxR (transcriptional regulator) – hypothetical protein – hypothetical pr	2821	1748	2345827	3880
17	chr1	2984664	2986696	PP2611-2612	hypothetical protein- hypothetical protein	2033	583	2985247	2791
18	chr1	592844	594636	PP0503-0505	major facilitator family transporter – oprG (OmpW family protein)- lipop	1793	1164	594008	2451
19	chr1	3307274	3309958	PP2908-2910	DNA-binding transcriptional regulator CsiR- hypothetical protein- hydro	2685	628	3307902	3657
20	chr1	3888317	3891491	PP3431-3435	ThiJ/Pfpl domain-containing protein- hypothetical protein- hpd (4-hydro	3175	2442	3890759	4322
21	chr1	4623446	4625272	PP4089-4090	hypothetical protein- Rhs family protein	1827	978	4624424	2466
22	chr1	5573548	5576688	PP4903-4906	ribosome-associated GTPase- motB (flagellar motor protein)- flagellar	3141	2495	5576043	4217
23	chr1	1915965	1917775	PP1715-1718	hypothetical protein- Cro/C1 family transcriptional regulator- hypothetical	1811	560	1916525	2431
24	chr1	5359923	5362587	PP4713-4716	nusA (transcription elongation factor NusA)- hypothetical protein- tRNA	2665	1207	5361130	3572
25	chr1	848558	851639	PP0730-0732	hypothetical protein- phosphatidylserine synthase- hemA (glutamyl- tRNA	3082	1920	850478	4125
26	chr1	2846143	2849249	PP2498-2402	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- phage i	3107	828	2846971	4153
27	chr1	6155128	6159714	PP5398-5302	ISPpu14, transposase Orf1- hypothetical protein- hypothetical protein-	4587	1423	6156551	6130
28	chr1	2810901	2813136	PP2465-69	thrS (threonyl tRNA synthetase)- infC (translation initiation factor IF-3)	2236	543	2811444	2987
29	chr1	5381400	5384141	PP4732-35	cyclase- smpB (SsrA binding protein)- GntR family transcriptional regu	2742	1980	5383380	3658
30	chr1	5260042	5262100	PP4636-38	acetyl-CoA acetyltransferase- 5-methyltetrahydropteroyltriglutamate- n	2059	581	5260623	2741
31	chr1	3577897	3579877	PP3158-59	hypothetical protein- benR (AraC family transcriptional regulator)	1981	1315	3579212	2634
32	chr1	1776833	1778617	PP1584-87	hypothetical protein- antidote protein- killer protein- Na ⁺ /H ⁺ antiporter	1785	880	1777713	2371
33	chr1	2033909	2037167	PP1808-10	pgi (glucose-6-phosphate isomerase- hypothetical protein- hypothetical	3259	586	2034495	4282
34	chr1	1744412	1746781	PP1542-45	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothe	2370	997	1745409	3095
35	chr1	5236599	5238283	PP4613-15	fecA (outer membrane iron(III) dicitrate receptor) – hypothetical protein	1685	565	5237164	2192
36	chr1	1140565	1143298	PP1001-03	arcA (arginine deiminase)- arcD (arginine/ornithine antiporter)- arginine	2734	1759	1142324	3552
37	chr1	3669415	3671610	PP3233-34	Crp/Fnr family transcriptional regulator- Heat shock protein 20	2196	1566	3670981	2835

38	chr1	161058	162630 PP0152-54	hypothetical protein- hypothetical protein- acetyl-CoA hydrolase/transfe	1573	863	161921	2026
39	chr1	395592	398805 PP0328-32	fdhA (formaldehyde dehydrogenase) – hypothetical protein- hypotheti	3214	2366	397958	4136
40	chr1	4799079	4801473 PP4226-29	hypothetical protein-hypothetical protein-hypothetical protein-hypoth	2395	655	4799734	3078
41	chr1	2720049	2722903 PP2379-83	electron transport protein SCO1/SenC- hypothetical protein- hypotheti	2855	601	2720650	3635
42	chr1	1314391	1316995 PP1145-50	HepA (ATP-dependent helicase)- hypothetical protein- hypothetical pro	2605	1947	1316338	3307
43	chr1	1512350	1514419 PP1326-29	uroporphyrin-III C/tetrapyrrole methyltransferase- hypothetical protein-	2070	1141	1513491	2620
44	chr1	2201569	2203840 PP1946-48	short chain dehydrogenase/reductase oxidoreductase- Leucyl aminope	2272	701	2202270	2865
45	chr1	622704	624342 PP0535-37	TonB-dependent siderophore receptor- cofactor metabolic process- Pr	1639	1021	623725	2063
46	chr1	4012632	4014105 PP3540-41	mvaB(hydroxymethylglutaryl-CoA lyase)- sRNA- Mg2+ transporter	1474	804	4013436	1855
47	chr1	3341044	3343673 PP2937-40	integrase- OsmC family protein- hypothetical protein- hypothetical prot	2630	1465	3342509	3303
48	chr1	3740472	3742511 PP3304-06	Bcr/CflA family multidrug resistance transporter- TerC family membran	2040	1465	3741937	2562
49	chr1	1476482	1478725 PP1290-91	polysaccharide deacetylase- PhoH family protein	2244	911	1477393	2814
50	chr1	5563559	5565316 PP4893-95	HflX (GTP binding protein) – hfq (RNA-binding protein)- miaA (tRNA d	1758	1033	5564592	2201
51	chr1	2885721	2887542 PP2541-42	transcriptional factor-like protein- GntR family transcriptional regulator	1822	1188	2886909	2267
52	chr1	4559026	4560750 PP4046-48	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein	1725	1040	4560066	2146
53	chr1	6015436	6018507 PP5266-69	acetyl-CoA hydrolase/transferase- cytochrome C5- Cro/CI family trans	3072	748	6016184	3820
54	chr1	4538043	4539684 PP4025-29	ISPpu15, transposase Orf2- hypothetical protein- hypothetical protein-	1642	528	4538571	2041
55	chr1	1748441	1751484 PP1548-51	hypothetical protein- Cro/CI transcriptional regulator- Cro/CI transcripti	3044	2190	1750631	3770
56	chr1	2063122	2065852 PP1838-42	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- cytochr	2731	597	2063719	3380
57	chr1	4151715	4154021 PP3655-57	cytosine/purines uracil thiamine allantoin permease- aromatic compou	2307	982	4152697	2854
58	chr1	2029076	2032666 PP1805-08	wbpM(polysaccharide biosynthesis protein CapD)- KpsF/GutQ family p	3591	1878	2030954	4431
59	chr1	2123237	2125115 PP1886-87	hypothetical protein- hypothetical protein	1879	1133	2124370	2315
60	chr1	1717824	1719750 PP1513-15	hypothetical protein- hypothetical protein- TetR family transcriptional re	1927	1081	1718905	2369
61	chr1	1241473	1243057 PP1080-83	molydopterin dinucleotide-binding region- glutaredoxin-like protein- bfr	1585	1031	1242504	1947
62	chr1	3838218	3839882 PP3388-89	hypothetical protein -Hypothetical protein	1665	605	3838823	2041
63	chr1	4534219	4535857 PP4021-23	alpha/beta hydrolase- hypothetical protein- hypothetical protein	1639	1044	4535263	2009
64	chr1	3536646	3538960 PP3125-26	Cro/CI family transcriptional regulator- polysaccharide export protein	2315	938	3537584	2836
65	chr1	1826828	1829165 PP1628-31	CinA domain-containing protein- recombinase A- RecX (recombination	2338	555	1827383	2864
66	chr1	743398	745117 PP0636-37	cold shock DNA-binding domain-containing protein- ISPpu15, transpos	1720	1233	744631	2106
67	chr1	2727175	2728743 PP2388-90	amino acid transporter LysE- hypothetical protein- LysR family transcri	1569	962	2728137	1920
68	chr1	4642694	4645203 PP4107-10	LysR family transcriptional regulator- class III aminotransferase- hypotl	2510	1871	4644565	3067
69	chr1	5911752	5913905 PP5183-84	glutamine synthetase- glutamine synthetase	2154	889	5912641	2622
70	chr1	2617977	2619721 PP2290-93	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- DNA m	1745	742	2618719	2124
71	chr1	3073641	3075450 PP2683-85	tail tubular protein A- tail tubular protein B- hypothetical protein	1810	707	3074348	2194
72	chr1	2132202	2134288 PP1890-92	pili assembly chaperone- type 1 pili subunit FimI- hypothetical protein	2087	765	2132967	2524
73	chr1	5078415	5080575 PP4471-73	mgfE (magnesium transporter)- csrA (carbon storage regulator)- aspar	2161	1467	5079882	2608
74	chr1	5827603	5829254 PP5107-09	mtgA (monofunctional biosynthetic peptidoglycan transglycosylase)- rp	1652	918	5828521	1991
75	chr1	3580315	3582259 PP3159-61	benR (AraC family transcriptional regulator)-hypothetical protein- benz	1945	1351	3581666	2341
76	chr1	1817427	1819947 PP1621-23	pcm (protein-L-isoaspartate O-methyltransferase)- nlpD (peptidase M2	2521	1311	1818738	3032

77	chr1	193147	195203	PP0167-68	toxin secretion ATP-binding protein – lapA (surface adhesion protein)	2057	1218	194365	2472
78	chr1	2590203	2592388	PP2267-70	phage single-stranded DNA-binding protein- phage endodeoxyribonuclease	2186	1557	2591760	2623
79	chr1	5194279	5196516	PP4574-77	hypothetical protein- urea amidolyase- allophanate hydrolase subunit 1	2238	1662	5195941	2657
80	chr1	2043370	2045346	PP1817-19	short chain dehydrogenase- hypothetical protein- methyl-accepting chemotaxis	1977	1171	2044541	2347
81	chr1	1955961	1957858	PP1753-55	hypothetical protein- hypothetical protein- fumC(fumarate hydratase)	1898	1377	1957338	2251
82	chr1	1449008	1450471	PP266-69	secretion protein HlyD family protein- hypothetical protein- regulator of	1464	883	1449891	1734
83	chr1	3540395	3543244	PP3127-30	lipopolysaccharide biosynthesis protein- exopolysaccharide/PEP-CTEF	2850	2354	3542749	3374
84	chr1	5110183	5111635	PP4495-96	amino acid ABC transporter permease- hypothetical protein	1453	728	5110911	1720
85	chr1	4007646	4009737	PP3535-37	ggT-1 (gamma-glutamyltransferase)- hypothetical protein - pobA (4-hydroxy	2092	797	4008443	2475
86	chr1	4110178	4114158	PP3616-19	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical	3981	1184	4111362	4709
87	chr1	5536474	5538216	PP4869-71	hypothetical protein- nadE(NAD synthetase)- azurin- hypothetical protein	1743	1228	5537702	2059
88	chr1	2779825	2782639	PP2432-36	dihydropteridine reductase- hypothetical protein- RES domain-containing	2815	1144	2780969	3312
89	chr1	2638076	2641119	PP2308-11	acyl-CoA thioesterase- hypothetical protein- methyl-accepting chemotaxis	3044	2602	2640678	3580
90	chr1	4563477	4564999	PP4049-50	vgrG3 protein- glgA (glycogen synthase)	1523	686	4564163	1791
91	chr1	672337	674635	PP0573-76	hypothetical protein- LuxR family transcriptional regulator- hypothetical	2299	1269	673606	2701
92	chr1	3764338	3766049	PP3327-28	Sodium-dicarboxylate symporter- ring-cleaving dioxygenase	1712	633	3764971	2011
93	chr1	5143505	5145297	PP4527-31	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical pr	1793	1246	5144751	2103
94	chr1	1123070	1124475	PP0984-86	RDD domain-containing protein- cold-shock domain-containing protein- gr	1406	633	1123703	1646
95	chr1	1043678	1045619	PP0903-06	type 11 methyltransferase- lipopolysaccharide kinase- hypothetical pro	1942	883	1044561	2272
96	chr1	6018873	6021248	PP5269-71	dadX (alanine racemase)- dadA2 (D-amino acid dehydrogenase small	2376	1823	6020696	2772
97	chr1	242459	244798	PP0190-94	disulfide bond formation protein DsbB- pfrA (anti-RNA polymerase sigma	2340	1212	243671	2721
98	chr1	2649734	2651544	PP2320-24	ErfK/YbiS/YcfS/YnhG family protein- hypothetical protein- oprI(outer m	1811	651	2650385	2100
99	chr1	2387992	2389302	PP2095-96	pyrD (dihydroorotate dehydrogenase 2)- rlmL (23S rRNA m(2)G2445 n	1311	660	2388652	1518
100	chr1	5139848	5141123	PP4524-25	Na+/solute symporter- LysR family transcriptional regulator	1276	639	5140487	1477
101	chr1	6039607	6041335	PP5292-94	pyrE (orotate phosphoribosyltransferase)- crc (exodeoxyribonuclease I	1729	779	6040386	1999
102	chr1	2360281	2361862	PP2075-76	hypothetical protein- hypothetical protein	1582	1041	2361322	1827
103	chr1	1683125	1685580	PP1477-81	single-stranded-DNA-specific exonuclease RecJ- NADH flavin oxidore	2456	1632	1684757	2820
104	chr1	3201696	3203488	PP2808-10	Oxidoreductase- hypothetical protein- hypothetical protein	1793	1349	3203045	2055
105	chr1	453341	455194	PP0372-75	class III aminotransferase- hypothetical protein - hypothetical protein -	1854	1323	454664	2103
106	chr1	1269079	1270931	PP1109-11	GntR family transcriptional regulator- serine O-acetyltransferase- synth	1853	564	1269643	2080
107	chr1	2531540	2532952	PP2220-24	C4-type zinc finger DksA/TraR family protein- hypothetical protein- hyp	1413	578	2532118	1584
108	chr1	3401474	3404581	PP3008-15	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothe	3108	591	3402065	3478
109	chr1	4484189	4486340	PP3976-78	sochorismatase superfamily hydrolase- hypothetical protein- hypothetic	2152	601	4484790	2400
110	chr1	4601473	4603384	PP4073-75	hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein	1912	546	4602019	2130
111	chr1	4491263	4493443	PP3982-84	hypothetical protein- hypothetical protein - ISPPu13, transposase Orf3	2181	724	4491987	2416
112	chr1	2808094	2809303	PP2462-64	hypothetical protein- cspA2 (cold shock protein)- hypothetical protein	1210	659	2808753	1338
113	chr1	3225894	3227516	PP2827-28	zinc-containing alcohol dehydrogenase- hypothetical protein	1623	932	3226826	1777
114	chr1	3532921	3534961	PP3121-24	Transcriptional regulator- 3-oxoacid CoA-transferase subunit A- 3-oxo	2041	566	3533487	2229
115	chr1	4866192	4867468	PP4277-78	GntR family transcriptional regulator- XdhA (xanthine dehydrogenase)	1277	520	4866712	1390

116	chr1	2999489	3001718 PP2623-25	hypothetical protein-protein secretion by the type VI secretion system-	2230	1656	3001145	2340
117	chr1	6178509	6181949 PP_5415-20	ATP synthase F0F1 subunit atp A-H-F-E-B-I	3441	1970	6180479	3469

fold enrichment	tags/ length
1,69	1,62
1,36	1,60
1,43	1,50
1,45	1,49
1,49	1,47
1,45	1,47
1,5	1,45
1,49	1,45
1,52	1,45
1,47	1,45
1,54	1,44
1,54	1,43
1,45	1,41
1,64	1,40
1,53	1,38
1,57	1,38
2,02	1,37
1,8	1,37
1,65	1,36
1,5	1,36
2,02	1,35
1,61	1,34
1,69	1,34
1,64	1,34
1,55	1,34
1,67	1,34
1,64	1,34
1,59	1,34
1,51	1,33
1,61	1,33
1,56	1,33
1,72	1,33
1,79	1,31
1,56	1,31
1,79	1,30
1,42	1,30
1,75	1,29

1,83	1,29
1,46	1,29
1,58	1,29
1,68	1,27
1,72	1,27
1,62	1,27
1,6	1,26
1,78	1,26
1,83	1,26
1,6	1,26
1,73	1,26
1,61	1,25
1,63	1,25
1,59	1,24
1,65	1,24
1,5	1,24
1,93	1,24
1,43	1,24
1,71	1,24
1,49	1,24
1,36	1,23
1,56	1,23
1,7	1,23
1,73	1,23
1,78	1,23
1,92	1,23
1,6	1,23
1,5	1,22
1,99	1,22
1,77	1,22
1,64	1,22
1,54	1,22
1,72	1,22
1,67	1,21
1,53	1,21
1,57	1,21
1,62	1,21
1,53	1,20
1,98	1,20

1,68	1,20
1,68	1,20
1,49	1,19
1,65	1,19
1,51	1,19
1,85	1,18
1,67	1,18
1,87	1,18
1,62	1,18
1,84	1,18
1,58	1,18
1,64	1,18
1,61	1,18
1,76	1,18
1,54	1,17
1,63	1,17
1,69	1,17
1,79	1,17
1,48	1,17
1,66	1,17
1,44	1,16
1,63	1,16
1,96	1,16
2,02	1,16
1,73	1,16
1,66	1,15
1,54	1,15
1,66	1,15
1,47	1,13
1,68	1,12
1,82	1,12
1,53	1,12
1,69	1,12
1,89	1,11
1,47	1,11
1,91	1,11
1,59	1,09
1,64	1,09
1,95	1,09

1,88

1,05

1,48

1,01

Búsqueda de sigma 54: cadena cadena +

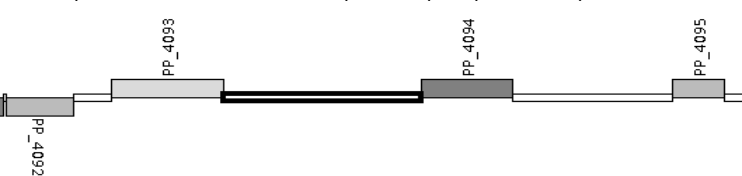
Score mínimo 7

****** combinación perfecta sigma en intergénica , con orientación coherente y con sitios cbrB

1>chr1:4627744-4631511

PP4092-PP4093-PP4094-PP4095

ISPpu15 (transposase Orf1)- rhs domain protein ,- hypothetical protein.- hypothetical protein
interruption-C (rhs es un motivo repetitivo que aparece en proteínas extracelulares)



2179 -1 TGGTAAAGAGATGCT 11.78 en codificantes las tres
2257 1 TGGTACCTAATTGCA 14.82
3444 1 TGGAAATCCGTTGAT 11.06

AAAGTACCGGGTCTGAACACGGCGACCTTGATGTCCAGTTCGACCAAGGCTGTGAGGCCGTCGATGGACTTTCGAAAGTCCACG
GGCTTGGGGTAGAGGTAGACTTTTTCGACTTTTGCTGTGCGGGCGCATCATGGCGGGCTGGCTCCAGAAAGAAATCGGGAGCAC
AGCATCGGGAATCAGGTGGACGGTTGGAATGTGGGGATGATGGATCCCTTACGGTCTACCAGAGCAGCTAACTGACTCTAGTG
GCCTGACTATCTGGCAGAGCAATTATAAAGGTTGGGAAAAAGCACCTGCAGAGTGGCTCAGCCCGAAGCAGGCGCGAGAGCAG
AATTTGCGGTTTTCAGGGTTCAGTACCTTGACCGGGAAACGGGGCTGCATTACAACCTTGTTCAGATTCTATGATTACATGTAGG
AAGGTTTACGCAACCAGATCCAATAAGCTTAAACGGCGGAATCAATCTATATCAATACGGGCCTAATACAATTGGCTGGATAG
ATCCATTAGGTTTAATACACGAATTTGGAATTGCAGGATACGGAAACCCCTTTACACGCAAGGGATGGATTGACCGCTCATGAG
CTACTACAAAATGCCTGGTTAAAAAATCACCAATTCATAACAAACAGAAAGTCAGGTATTGCAAATACAAATCCAGCAATAGC
ATTACAAGAAACGCAATGCACAAAAACATCTAAGCTACAAGCAAAGTACAGCCTACACAACCCGGAGACCTTGAGAAAAAC
AGAGCGCAATACAAAACATAAATAGAAACATCTCAATTAACACGCAGAGGCATATACGAGGATCTAGTAAAAAACAGAGGCTGG
GACCCTCAAAACGCTAAAAATTTTGCCACCGAAAAAGCAATGGAACCTCAGACAAAAATCAATAAAATTCACCAGCAAAACATGG
ATTAACAAAAATGCCCATAAACAACCTAATCGCCAAAATTAATAAAAAATTCACCTCAACAAAAAACTGGCAGGATCGGAGGAAA
CATTCCGACCATCCTCACAGGCATGGAGCAAAGTTTGTAAAACTATAATTTCTACGCATCATTCCAAAATCCTGACAACAAAA
ATAATTATATATCAGTTTTAATCCCGAAAGATTACTCAAACATGATTGACAAAAATATATATCCCGACTGCTCAATAAAAGTA
TTCTCCACGACTTTTCAGAAGAAAGCGAAAAACGAAACCATAACGATAAAGCACCTTAACAAATCATACATTACAGACTATTG
CGAAGTGGCCTCGGATGAGTTTAACTTTATAACTCGAGCGGAGACCCCTTGCTAATACAAGACGAACCATTTCTACTATAACG
ACCTGAGAAGAGATAATTACAGCTTTTTCATACAAATTGATGAAGACTATTATCCAGACAACCTAATTAGCGGAAACTACATA
TTCGGATATGGCTCACTTTACTTGTATAGAAATAACGATACCGGAATCATAATCGCAGGGTTTTGGCAGTTCTCATAGCCACA
TGAACTACGTAAGTTTCGCGAGTTCGCTAGAAATATTCCCAAAGAAACGTATGCTACTCATGAACCCACCTACTACAAAATGGA
GCAGTACCAGGTTACAACCTTCCGAACCTATTTCTGTCGCTACCCCGCGTAAAAAATCGTAAGGCACCACGACTCGCCAGCCCAT
CTCGGGGCATGTATAAAATGCCCAAACGAACGACCGCCATCCGCCATGACTTCGAGCGGGACGCAATCGGCCGGCTTGTCAG
CAAGTGCCTGAAGATGGCACTACCGCTACTGCTACGACGCTGCCGACAATCTGCTGTCCAACCTAAAAAATCACGCAGCCAT
CAAGGCGGTGTATCGCGAGTGGCTAAGAGAAAAAAATGGAACCTGTGGAAGGCAAAGTAGATTGGTCGCAAATCAGCAATC
GAGAGGTTCATGCAACTTTCGGAGCGAATGTTTGACGCGCAGGAGTCCAGCCACCAGCAGAAGCATCTGAGGCAAGCTAAAC
ATGCACACCATAAAACATACTTGAGAAATTCAGCAATGACCCGAGAATTGACGTTTTTCCCTTCAGACTCACCATTACCCAT
ACTACCAACTGCCTTAGCTATCTCTCCAGACCTCGCTGAATTTCTACAACTTTGCGGCGCGCCAGTTGTTTTTCCCCAAAAA
ACGAAAGCATCTCTTTTACCACTACTACCGCCGCAACAGATCAAGCAATCCAATACAGAGATAGTTTGCACTCCATGCGATGAT
GATATCTCCTCATCATGGTACCTAATTTTGCAAAACGTACAACACGACTACATCTCCATCGACCTATCAATAGAGCGTTCTGG
CCGCTGCTATGACAGCAATTTTGAAATTCATGGCGTTCGCTGGAAGTTGCCCATATTATCGCATTGAGCTTCAAAGAGCTATTAA
TGAGCATCTACACATCTGATGGCGATGACATTTTGTGGAGAAATAGAAATTATGGAGATGCTTACGACTAAGAGCAAACATTA
CTAAAAATATCAATCAACCAAAACCAACCACCTACATCATGAGCAAAATAAACATTTAAGCCTCGACGACAGATCAAAAAA
TGGCCAGACATATATATCACCTGTAACCTTTTCGCGGGTTTACCACAACCAGAAAAACTTGCGAACAAGCCTTTTTTAACGAAAC
AGCAATCAAAGCTTTGAGGGCATTTAAAAACACCTTACCATTTTCCACCCACAATATTATTAGTGCTTGTCAAATTTTACATAC
TTCGAGCGTGAAGACGATATCAGCCACTGACGCGCTATCAAAAGCCAGCTCCGATTTGCTTGAGATTCTCTACTGCCTAGGAC
AAGGATTTTCGGATTGCTAGGAGCTTATAGCCAAATGGCACAGACCGTTTACGCCGCACGGATGGGTAAACCAATATAGCAATC
TCGCCGGGCTATAGGAATAGCCAAGGATTTTAAATGACACTTTCCGAACCTACATAAATCAAATACCTACATAAACCTCCTTGA
CAATTTAGACAAATACATTTCCCGAGAAAAGTAGATAGACAATCAAAAAATTCACGAAACCGTCACCACCTCTTCTGGAGAAATGGA
TTCAACATTTCTCGTTTTCTTGCGACGACTTACATCACACCATATTAAACAACCAACAGCATTTAATTTCTTATATCATAAAA
ACAAGCAGCCTATACAGAAACCAATGGCGGCAGGGACAACATAAATAACCTAGCCCCAAAGGCAAATTTTCCAATCAGCCATA
TTATTGAATACTGCATATTATCAAGGAAAAAAAGTGAATTATCAGAGTACATAACAAAAATTCGAATACCAGCCCCCGACAA
TACACGAGAGAGATTGAAAAAATATTCTCTGAAACCAAGCCCTCGTGAGCAAAATGGTCATTTCGGCGATGGAGGAAGCGCTGT
ACGAACCCACCATCCTGCGCCAGTTTGCCCCGTATCGCCCTGGAAAAATCCGTTGATTCGTTGCGTCAATCCAGATACGCAAGAC
AAGCAACAGGACCAGAGAGTAACGCTTCAGCGGCTTGCCCGATTTCGCTTTGGCCTTACCTGAGGAATCAAACCGTGAATCCCC
TCGCCAGCAAAACCGAAGCTCAGAAAAGCAGGCTGATTGAGCAGGGCTTCCAGGTTTACGCTTGCACCTGCGCTGACGCATGC
TGCCTGACGGCCATGCGTTTCAAGGGGTAGAGGACATTGTGTGAATTTACTTCCAAACCGCCGCGGCCCACTTCTATCGAA
AGCGTTCAACCCACAGCGTCCATCGTTGAAA

***2>chr1:5336016-5339232**

PP4696-crcZ-PP4697:

cbrB (Fis family transcriptional regulator)- crcZ (sRNA)- pcnB (poly(A) polymerase)



1098	1	TGGCCCGCGCCCTGCA	12.14
2234	1	TGGCAGGCATCCTGCT	15.90
2640	1	TGGCAGGCATCCTGCT	12.29

GCCCATGCGCGCGGAGCCACCAGAACAGCGAGGAGCCCGTGTGCCTGGCTGAAGTGGCACAAGATGCCATCGGTCTGCTGGC
 GTTGAACCGGCGCAATTTTCGAAGTACAGTTCTTCAACCTTTGCGACCCGGACCATTGGGCCGAAGGTGACCCGCGAGCGCCTGG
 CCCAGGTGCTGATCAACCTGCTCTCCAACGCCCCGCGATGCCCTCGCCGCCCCGGCAGCGCCGTGCGCGTGCAGCGAGGTTAAC
 GAGCACACCGTCGACCTGATCGTCGAAGACGAAGGCAGCGGGATTCCGAAGAACATCATGGACCGCCTGTTTCAACCTTCTT
 CACCACCAAGGACCCGGGCGAAGGAACCGGACTGGGGCTCGCTCTGGTCTATTCCATCGTGGAAGAGCATTATGGGCAAATCA
 CCATCGACAGCCCGGCCGATATCGAACGGCAACGTGGCACCCGATCCGCGTGACCTGCCCGGCGATGTCGTAGCGACGTCC
 CCTGAAATTCGAGACCGTCGAGAGAAATGAATCAATGCCGCACATTCTGATCGTCGAAGACGAAACCATCATCCGCTCGGCC
 TCGCTCGCCTGCTTGAGCGGAACAGTACCAGGTGAGCGAGGCCGGCTCGGTGCGAGGAAGCCCAGGAACGCTTCAGCATTGCC
 ACTTTGACCTCATCGTCAGCGACCTGCGCCTGCCCGGCGCGCCCGGCACCGAGCTGATCAAGCTCGGCCAGGGCACCCCGGT
 GCTGATCATGACCAGTTACGCCAGCCTGCGCTCAGCGGTGGACTCGATGAAAATGGGCGCGGTGGACTACATCGCCAAGCCCT
 TCGACCACGACGAGATGCTGCAGGCAAGTAGCGGTATTCTGCGTGACCGGCAGAACGCCCCCGCTGCTGCACCGCCAGCCGAG
 CCACGCGCCAGCAATGGCAAGGCTACAGCGTCCGACAAAGGCAGCGCGGCAACGGCCAATGGCGAGATCGGCATCATCGGCTC
 GTGCCAGCCCATGCAGGACATGTACAGCAAGATCCGCAAGGTGCGCCTACCGACTCCAATGTGCTGATCCAGGGCGAGTCGG
 GCACCGGTAAAGAGCTGGTGGCCCGCGCCCTGCAACCTGTCTCGCCGGGCCAAGGCACCGATGATCTCGGTGAACCTGCGCG
 GCCATCCCCGAAACGCTGATCGAATCCGAACCTGTTGCGGCACGAAAAAGGCGCGTTTACCGGCGCCAGCGCCGGGCGCGCCGG
 CTTGGTGGAGGCCGCCGATGGCGGTACGCTGTTCTCTCGATGAAATGGCGAAGTGGCGCTCGAAGCCAGGCTCGCCTGCTGC
 GTGTGCTGCAGGAAGGCGAGATACGCCGGGTAGGTTGCGTGCAGTCGCAAAAGGTGATGTGCGCCTGATCGCCGCGACCCAC
 CGCGACCTGAAAAAAGCTGGCCAAGGCCGGCCAGTTCCTGTAAGACTTGTATTACCGACTGCACGTATCGCCCTGAAGCTGCC
 GGCCCTGCGCGAGCGTGGCAGCGACGTCAACGAGATCGCCAACGTCTTCTCGCCCGCCAGAGCGCTCGCATCGGCCGCGACG
 ACCTGCACTTCTCGGCCGAGGCCGAGCAAGCCATTTCGTCACTACAGCTGGCCCGGTAACGTGCGTGAAGTGGAAAACGCCGTG
 GAGCGCGCGGTGATCCTCAGCGAGAGCGCAGAAATTTCCGCCGAGCTGCTGGGCATCGACATCGAGCTGAGCGACCTGGATGA
 GGATGACATCCTCGACAATGCCCTGGTGGTGGCCAACGCGGGCAATGCCAGCCACGAGCCGACCGAAGACCTGTGCTGGAAG
 ACTACTTCCAGCACTTCTGCTTGAACACCAGGACCACATGACCGAGACCGAAGTGGCACGCAAGCTCGGCGTAAGCCGCAAG
 TGCCTGTGGGAACGCCGCCAGCGCTGGGCATCCCACGGCGCAAGAGCAACGCTACCAGCGAATAAACCACCTACGCACCGCA
 CGCCGCGAGCCTATGCGGCGTGGGTGAGACCGAGCGCGCCGCGCGGCGCTCGGCCTCACAGGCGCTGAACGTGTACGACGA
 ACACCCAGGTAACACCTCACCTCCCGTAAAAATCTGTTACCCAAGCTTTCCGCCGTAACGTTCCCGGAGGCGTACGGTAACG
 AAATTGCGACATTTTGAACCTGCCAAAACTGCAGAACCCGTTCAACCCCTTGATTTTAATGGGTTTTGAAAAGTTGGCACGG
 CACCTGCTATATGTTTGGTACAAGAACAAATAACAAGCACTGCAACTCAGAATAAGAACAAGACGAAACGGCTCACGCACAATA
 AAAACAAGATGGCGGAGGCGCAGCTAACTGATTCTTTTGGAGAGGATGCGTGTGTTGGGGCTTGCCCCACAACAGGCAGAGAA
 CAACAAAACTGCACTAAAAAGCAGCGCCTGAACTGGTTGGATCGACAGATCAACGTGACATCAGCGGCCAAAGCAATCCGTTT
 GCTCTTTACCCCCGGTTTGGGGGTCGTCCACAAGCTTCGAGATTTGTGGACAGGGCACTCAACAAAAAAGAAGCCAGCAA
 AAAAAAATAAGAGCAGCAACGACTTCTTGGGGAGCTTAGGCTCCCTTGTCTGTTTCTACCTTCTGGCAGGCATCTGCTA
 CCCGCTACACCATTTCCCGAGTAAATGCTAGAAATCCCCGCCATCATGCGGCCATTCTCTTATTTGGCCGAACATTCTTT
 CACACAGTGCATCCCATGCTGAAGAAGCTGTTCCAGTCTTTCCGCCCGCCGTTACCGGGCCCGCACCACAGGCGCACCACGCC
 CGAGGTGATCAACAAGAGCCAGCACTCGCTGCAGCGCCACCAGTTACGCCGTGATGCGGTGAACATCGTGGAGCGCCTGCAAA
 GCGCCGGCTACCAGGCTTACCTGGTGGTGGCTGTGTCCGCGACCTGATGCTGGGCATCACGCCGAAGGACTTCGACGTGCGC
 ACCAGCGCCACCCCCGAACAGGTCCGTGCGGAGTTCCGCAACGCCCCGATCATTTGGTCTGCTGCTTCAAATTGGTCCATGTGCA
 TTTGCGCCGTGAGATCATTTGAAGTCGCCACCTTCCGCGCCACCACCTCCGAGGACGACCAGGGCGATGCCACCGTTCTGTCG
 ATAACGCCAGTGGCCGCATTCTGCGAGACAACGTGTACGGCACCTTGAAGAGGACGCGCAA

3>chr1:5028489-5033017

PP4432-PP4433-PP4434-PP4435-PP4436

M24 peptidase family- MFS amino acid transporter- dadA1 (D-amino acid dehydrogenase small subunit)- hypothetical protein- hypothetical protein



321	1	TGGCCTATGGATGGAT	7.23	codificantes todas
2202	1	TGGAATACCTGGGGCA	7.08	
2900	-1	TGGCACTCCAGGGGCT	8.17	

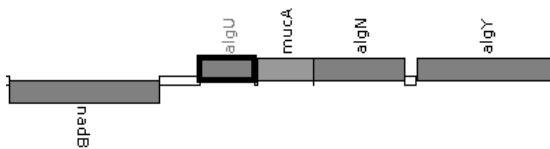
GCCGGCTGCTACAAGCGCTATCACTGCCCGCTGTCCCGAACTGTTTACCTGGGCAAGCCACCGCAGCATTTCATCGACGGCGA
 GAAAAGCAGTCGTCGAAGGTATCGCTGCCGGCCTCGAGGCCGCCAAGCCTGGCAACACCACCTGGTGATATCGCACGTGCCCTTCT
 TCGGCGTGCTTGAGAAAGTTCGATATCCACAAGGACAGCCGTTGCGGTTACCCAATCGGTATCAGCTATCCACCAGATTGGGGC
 GAGCGCACCATGAGCCTGCGCCGAGCGACAACAGCGTGCTCAAACCTGGTATGACCTTCCACTTCATGCC**TGGCCTATGGAT**
GGATGATTGGGGGCTCGAGATTACCGAGAGCATCCTGATCACTGATACTGGGGTCGAGACGTTCTGCTCGACTCCTCGCAAGC
 TTTTCGTCAAGGACTGACGAAAAGTTTGCAAGTCGCTGGAGTTATAGTGCCACGGCTATCTTCAGCGACAATGTGATGGTGCC
 TTAAAGCACCATCACTCCAGCCACTCCTTTGTTTTACAAAAAAGCACGCAGCCTTGAAGAGGTTGAAAGTTGATTGTTCCCC
 AGGGAGCGAGTCAACCTGTGCCTAACGCCTGAACTTATCAAGGACGACGCTGAATAGAAGTAATACCCAGACAGGGCTGGT
 GGCGTAGACCTCCTGCTCAAGCGCTAAAAGACAGATAACAAAAAAGGTGACAACATGCCCTACAGCGACTTCTTGCATAACT
 GCCAACTATTATCGAAATCAAAAAATCGGCTTCGCGATAAAGCGCAGATCAGCAGTTGGTCATTTGGCCATGTGCATTCAAGCC
 TGACTAGCCAGTTTCGTCTTACCTAAGAAAAAGTGGTAAATTTATGTCTATTAGTACGCATCCAGCTTCAACCATTCTTCGAGCA
 CAATAAAAAAGCTTGAACATGAGCATGCCCTCGCAAAGCCGTGGTCGCAGCTGCATTAGGCAACGCGACGGAATGGTTCGATTAC
 GGAATCTATGCTTACGGGCTCACCTTCATCTCAGCCGCCCTTGTTCCTGGCTCTCAATCTGAAGCCCTTTACTTCGGCCTGGC
 AACATTCGCTATCTCGTTCCTCATTCGACCATTGGCGGTATGTTTTGGGGGCCGCTAGGTGACCGAATTGGCCGCAAGCGTG
 TGCTGGCCATGACTGTCTAATGATGTCTGTAGCAACATTTATTATTGGCATCCTGCCACTTATCAATCGGTAGGCTGGATA
 GCACCTGTAGCGCTTATCGCGCTGAGGCTCATCCAAGGTTTCTCAACTGGCGGTGAGTACGGTGGAGCAGCTACTTTTCTAGC
 GGAATACGCGCCTGACAAGCGCGAGGTTTTCACGGTAGCTTCTCGAGTTTGGCTCCCTCGCAGGTTTTTCACTCGGCGCTT
 TGGTGACCTTGAGCGTATCGGTGCTCATTGGAGATGCCGCCATGTACGAGTGGGGGTGGCGCGTTCATTCTGATCGCAGCT
 CCTCTGGGCGTATCGCGGTCTATTTGCGCACCAGGATCGAAGACACCCCTGTGTTTCTAGAGCTCGAAAAGAAGATGGCAAG
 CGAGCCTGTTGACCGAAGACTTCTATTGCTGAAATTTTTGGGAAATACAAAAAGGCAGCATTTGTCGCTAGGGGTTTTGGTAG
 CAGCACTGAACATAACTTATTATATCCTGCTGGCATAACATGCCGACCTACATGCACAAGGAAGTTGGGGCGAGCGAGAACATG
 TCATTGCTTGCGCCTCTGGTTGGAATGTTGGCCATGATGATGTTTACATACCATTTCGCGGGCGAATCTCAGATGTGGTTCGGCTT
 CAAAAAATGTGGTTCTTCTCGCTTATAGGCTTTTTTCATTTTAGCGATTCCAATGTTCAAGCTCATGTCTACAGGGCTGACGG
 GGTCAATGATAGGATTTGCACTGCTAGGAGCGTTTTTTTGTCCCTCAGCTTGGCACCATTTCGCTATGTTCCCGGCAATGTTT
 CCAACCCAAATCCGGTATGCGGCGCTGGCCATCGTTTACAACATTTCCGCATCTATTTTTGGCGGAACAACACCACTGGTATG
 CGATCAAAATTATTAATTCCTCGGTTACCTGACGCACCTGCCTACTACATCATGGTTGCATCAGCACTTGGGATTATTGCGT
 TGTTCCTTTGTGATCGAGACTAAAGGTTGCTCGATTTCGCGGGGA**TGGAATACCTGGGGCA**AAATAACCTAATAGGCAGATGGTA
 TAGAGCCTGGGTGCTAATCAGCACCCAGGCTGTTGCGAAGCTCCATTCCTCCGGGCAAGCCGACCGGCTACGTCGATATAAGC
 AGCAGCGCTCCACCCTTCCTTTTTATTCTTATCTCACCTCTTGGCATCTGGCCCTGATAACAGTGTCTTCGCTATCTCTTGCC
 CTTAATCAAAGCTGTGCGGTAAAGCGCAGTTTACCAACGGAAAAAGCTCAAGGCGCGCAGGGATTAAAGCTTATTGCCCTCTC
 TTTTCGCGTCATAACGCAGTATTTATCAATCATATAGTTGCCGGCAACATAATCCACTGGGGGCGGCAAAATACATCCGAAAG
 ATTGCTTGTGATTTTCACTGATTCTAAGCGTTTTAGCTGAGCTACGTTATTATTATTCAGCGAAATTCACCTCTGGCATCTGGTT
 ACATCCGCGCATCGCAGCTCGGAGAAGAACAAAGAAATTTAAATTTACGAGGTGCCTGGA**ATGCGTGTACTGATACTTGGTA**
GCGGCGTCTCGAAGCTGTCACTGCGCTACTACCTCGCTCGAGAAGGTTTTGAAGTCGTCGTTGGTAGATCGCCAAGACGGCCCC
GCGATGGAACAAGCTTCGCAAACGCGAGGGCAGGTTTTCTCCGGGTATGCCCTCCCCCTGGTCA**AGCCCCCTGGAGTGCCATTGAA**
GGCCATTAGATGGATGCTTCAGCAACACGCACCTTTAGCGATCAAGCCAACGCTTAGCCTGGATCAGTATCGTTGGATGATCC
AGATGTTGCGTAAGTGAATCCGGCAAGCTATGCAGTCAACAAAGAACGGATGGTTTCAATTTCCGAATATAGCCGAGACTGC
CTGGATGAACTCAGGGCTGAGACTGGTATATCTTACGAGGCTCGCCAACCTCGGAACCTACGCAACTGTTCCGCACTCAAGCTCA
AGTAGATAATGCTGCTAAGGACATAGCTATCCTGAAACAGTCAGGCGTGCTTTTCGAGTTACTTGATCGCGACGGAATTGCTA
AAGCTGAGCCGGCGCTCGCAAGTGTTCGCGATAAGCTAGCAGGGGCTCTTCGCTTGCCAAATGATCAGACCGGTGACTGTCAA
ATGTTACGCGGAAGTTGGCAAAGATGGCCGAAGAGCTTGGCGTGAGTTTCGTTTTGGATGTAATATTGACCGCCTCGAATG
CTCTGGAGATACTATTTCCGGCGTATGGATCGACGGAACCTCGAAGTAGCCGACCAATATGTGCTGGCGCTGGGAAGTTACA
GCCCCCATATGTTAAAGCCGCTGGGCATCCAAGCACCTATCTACCCGCTGAAGGGATACTCCCTTACGATTCCCATCACCGAT
GCAAGTATGGCCCCCTCATCAACCATTCTTGATGAAACCTACAAGGTCGCTATCACACGCTTCGATGATCGAATCCGTGTTGG
TGGCATGGCTGAAATAGCGGGCTTCGATCTGTCACTGAACGCTCGCCGCCGAGACACGCTTGAGCTTGTTGTAGGCGACCTTT
ATCCAAAAGGTGGGGATCTCACCAAAGCTACGTTTTTGGACAGGGCTACGCCAGCAACGCCTGACGGTACTCCGATTGTAGGT
AAAACAAAATACCGCAACCTGTTCTCAATACCGGCCACGGGACTCTAGGCTGGACGATGTCTTGCGGCTCAGGTCGATTGCT
GGCCGATTTGATGGCAGGAAAAAAGCCAAAGATCAGCGCCAAAGGCCTTGATATCTCCCGTTACTCCAACCAAAAGGAAGCCC
ATAATCATGGCAATCCAGCGACTGCACTCTAATAAGCGCCTGAGCAACACCGTTATTACAAATGGCATCGTCTATCTCGCAGG
CCAGTTGGCG**AACAACCAGATGCCC**ACATTGCACTCAAACCTGCCGAGACCTGGCGAACATTGACAGGCTTCTTGAGGAGG
 CCGGTAGTCACAAGTCGAAAATCCTCACAGTGAATCTATCTGAACGACATCACCACCGACTTCGCTGCCATGAACGAGGTT
 TGGGAAGAGTGGGTGCGGGAAGGTCAGGCTCCTGCGCGAGCCTGTGTTGAGGCGGCTATGTTCAAGCCAAGCCTGCTCGTTGA
 GATGTCCGTAGTAGCAGCAATCGCCTGACGCTTAAAGCGCACCCGGCAGGCGCCTATCCAGCCTG**GTAACA**GGTCAGAGGCG
 CTCGCCGGGCACCGCTAAATCGATCCAGGAACAACTC**ATGAACCACGTGCTTGCCGACATTAAAGAGTTTCAACAAGAGCTC**
 ATCGCTATCAGGCGCGACATCCACAAACATCCCGAAACCGCTTTTCG

4>chr1:1626576-1629929

PP1426-PP1427-PP1428-PP1429-PP1430

nadB(L-aspartate oxidase)- algU (RNA polymerase sigma factor AlgU or sigX)- mucA (anti sigma-E protein, RseA) - algN(sigma E regulatory protein MucB/RseB)- algY (protease Do)

algU es un ECF sigma factor. En PAO se llama sigX y un mutante tiene niveles muy altos de crcZ y muy bajos de Crc y putA putP. Poster Pseudomonas 2013



3024 -1 TGGAAAGACCCCTGCA 10.52 en codificante
 +1 TGGCCAATGGCGTGCT 9.33
 +1 TGGCACAGGCCGAGCA 9.92

CTCGACGGTAAAGCGCACTGCGTCTTTCATGGCACAGCCCCGCCGGCATTGAGGGTGTCTCGACATGCGACTGCACAGTAT
 CGGTGTTGTCCAGCACTGCAGCGACGCCGCCCTGGGCCAGAAAGTTCGAGCCGTTGGACAGGTCGCCCTTGCTCAATACGGCA
 ACGCGAAGGTGGCTGGGGAGGTTAAGTGCCAGGCTGAGACCGGCGGCACCGCTGCCGATCACCAGGACATCATGTTGGAATTG
 TTGGCTCATGTCGGGACACTAGTAATCTTTGGGAGGGGCACGGCACAATGGTCACGCGCGGATGGCATTGTGAAACTATCGTT
 AAACGTGTCGGGATGCCTTTATAGCAGCCCCGGGTGGCCAATTTCCATGCTACCTGCCAGGTTGCGACAACCTTTGTGGGAAC
 TTTCCGACATGGCCGAAATCCTATGAAGGCTGCCCCGTACGCCACAATTTGCCGCGGCGACGCAGGGCGGCAGGCCTTTCCAG
 GCTTACCCCTGTGTATTTGAAACCTGATTATCGACGTAGCCGGCCGTGACCGCGCCGCGTCTTCCGTGCAAGCCGACCAAGGG
 CTGCAGGAAACTTGCTTGGAGGGGAGAACTTTTGCCAAAGCCCGAGTCTATGGTTGCAAGCCTGAACGATGGCTGATGCAAC
 GCTCCTTCGAGTTCACTGAGGAGTGTTCATGCTAACCCAGGAAGAGGATCAGCAGCTTGTGCGAGCGCGTTTCAGCGCGGCGACA
 GGCGAGCTTTCGATCTGTTGGTGCTGAAGTATCAGCACAAGATTCTCGGGTTGATCGTGCGGTTTGTCCACGATACCCACGAG
 GCCCAGGATGTAGCACAGGAAGCCTTCATCAAGGCCTACCGTGCGCTTGGCAACTTCCGCGGCGACAGTGCGTTCTATACGTG
 GCTGTACCGCATCGCCATCAACACGGCGAAGAACTACCTGGTGTCCCCTGGAAGACGGCCGCCAGACAGTGATGTGAGCTCCG
 AGGATGCGGAGTTTTACGACGGCGATCATGGTCTCAAGGATCTCGAGTCCCCAGAGCGCTCGTTGTTGCGGGATGAAATCGAA
 GGCATGTCCATCGCACCATCCAGCAACTGCCCGAAGACCTGCGTACGGCATTGACGCTACGCGAGTTCGACGGGCTGAGTTA
 CGAAGACATTGCCAGTGTTCATGCAATGTCCGGTGGGTACCGTGCGCTCTCGAATCTTCCGCGCTCGGGAGGCCATAGATAAAG
 CCCTGCAGCCGTTGTTGCAGGAAACCTGAGACAGCGGCGACAGCGCCAAGAGAGGAACCGCCATGAGTCGTGAAGCTTTGCAG
 GAATCGCTGTCCGCGGTGATGGATAACGAAGCGGATGAACTGGAACCTGCGTCCGGTGTGTAACGCCGTCGACGACGCCGAAC
 CCGTGCCACCTGGTTCGCTTACCAGGTTGCCCGTGCAGCCATGCACAAGAACTGCCTGCTGCCTAACCTGGATATCGCCTCGG
 CGGTGTCGCGCGCTGGCCGACGAAGCCGTGCCAGCCAAGTCAAGAAAGGCCCTTGGCGCGAGCATTTGGCCGTCTGCGCGTA
 GCCGCTCGGTTACCGTTCGCGGTACTGGCCGGTGTGCGTATGTACAACCAGGACGAAATCACGGGTGCAGAGCTTGTGCCCA
 GCAGCTGTCCAACAGGGCCTGAGTGTGCCACAAGCGCAAGGCCCGGCCGTTTGGCAGGCTATAGTGAAAGCAGTGAGCAAC
 CGACCGGGCCAA TGGCCAATGGCGTGCT GCAGAACAGGCCGGCTGGGATCAGCGTCTGCCAGGCTACCTGCGCCAGCATGCC
 CAGGAATCTGCGCTCAAGGGCACTGAAACCGCATTGCCGTATGCCCGCGCCGCCAGCCTGGAACACCGTTAAGTAAGGAGGAT
 CATGCGCGGCTACCTCTCTTGTGCTGCTGATTGGCAGCTGCATGACGGTGCCAGCATTGGCGGCCAATCTTTCGCCTGAGG
 CGAGTGAGTGCGTGAACAAGC TGGCACAGGCCGAGCA AAAACAGAGCTATCAAGGGTCGTTTCGTCTACGAACGCAACGGCAGT
 TTCTCTCCACGACATCTGGCACAGGGTCGACGACGGCAAGGTGAGCGAGCGGCTGTTGCAGCTTGATGGCGCCGCCAGGA
 AATCGTGCGCGTGGATGGCAAGGTGGAATGTGTGACGCGGGCCCTTGGCCAGCGGTGTACGGCGCCGCCGGATACCGCACCGC
 GTGTGCTTGATCCGCTGAAACTGATGGGTTGGTACGATTTGAGTGTGGCAGGCAAGTCACGGGTGCGCCGGGCGCGATGCCGTG
 ATCATTACGCTCACGCCACGCGACCAAGCATCGCTATGCGTTTGAATTTGCACCTGGACCGTCACTCGGGTTTGGCGCTGCGTTT
 GTTGATGCTCAACGACAAGGGGCGAGTTGCTGGAACGCTTCCAGATGACCCGCTCTCGATACCGATGAAATACCCAGCGACGCAG
 ACTTGCGCCCAGGTGCTGCCTGCAAGCCAGTGCAGCATGTGGCAGCCGGCAGCAATGATGCCGTGCGGGGTTGGCGTTTCGGAC
 TGGCTGCCACCCGGTTTCGAGCTGGTCAACAGCTCGGTACGCCGTGATCCCAAGCACAAACAGTTCCGTGAGCAGCCTGATGTA
 TGACGACGGCCTGGCGCGTTCGTTTCGTTTCATCGAGCAAGTGAGCGATGATGGCGGCACCGACATGCGCACCCAGCTAGGCC
 CGACCTCGGCAGTCTCGCGTCGCTGAATACACCAAGGGCAAAGTGATGGTGACCGTGGTTGGCGAAATTCGCTGGGTACG
 GCAGAACCGCTCGCCCTGTGATGCGCCCCCAGGATGCCAGGCGCGCCAGTAA TGGCGCGCTTTTGGCTGCCGAGCCAAAGC
 AGGTGGGCATACGCTGAAATGAAATTAAAGCATTGTCTTTTGCATTTGCAATCCATCGGCAAAATTTCTATAGGTAGGCTTTGAAGA
 GCCTGGCCTTTTCTGCGTTG TGCAGGGGTCTTTCCA AACTACCGCTCGTTGTGACGGGAGTCGTATGTCAATACCAGCCTTGA
 AATCCTACCTAATGATGTTTCGCTGCTGTGCTGATGCTCGGCCAAGTAGTCGCCGCCAGGCCGAGGAAGCCCTGCCGGAATTC
 ACCACCTGTTGGAGCAGGCTTCGCCGGCGGTGGTCAACATCAGTACCAAGCAGAAGCTGCCTGACCGCCGATCGCCGAAA
 CCAGATGCCGGATCTGGAAGGCCTGCCGCCGATGTTCCGCGAGTTCCTTCGAGCGCAACATGCCCCAGCAGCCCCGTTCCGCCG
 GCGGCGACCGCCAGCGCGAGGCGCAGTTCGCTGG

5>chr1:5602336-5605250

PP4924-PP4925-PP4926

serine protease - hypothetical protein- secretion protein HlyD



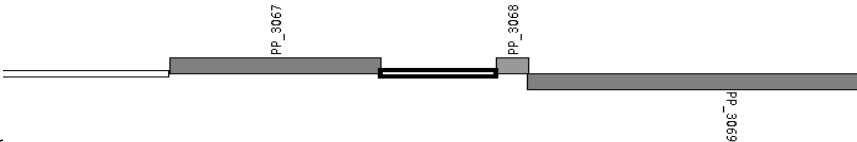
1539 -1 TGGAAATACGGTCGCA 12.07 en codificante
 2019 -1 TGGAAAAGTTCATGCA 10.76 orientacion buena buen score. intergenica. No hay cajas

CAGCCGGTCTGCCAGCCGGTGCGGCGCAGTGAACCACTGTTATCGATATCGAACAGTACGCCTTCCTCGATACCCGTCAGAC
CAACGCCCTTGCCGCTGAGGTTCGAGCAAGAGCGGGTCGACAAACGTGTTACCCGTGGTCATTGCTGCCAACCCGTTGAGTACC
ACGGCATTGCGCAGGCTGAAATCCGGTTGTTTCATTGCCATCAGCATAGAAGTACGCCAGATGCTGATTGGGTTCGCACGTTGGG
GTCGATCTGGAGCTCGCCAGGGCGAACACCACCGGTGGCCAAACTGCCCAACTGAGCGGAGGTGAAGTCGGTGTTGTCGAGGG
TGCTGTTCGGTGAATGCGATACTGTGGGTTCAGGCGACGATCGACGTAGCCGTTGGAGACGTCATTGCGGATATCGTCCTGGCCT
TGGAGGTTCGCGCGGGATTTCGGTTGTGGGGGTGATTTTCGATCTGCAGTGTGTTGATCAGTTGCATTATCAAAGTGACTAGCGGC
TTTAAAGGCATTATTGATGGAATTGAAAAGCGAAGCTGCGGCAGCACTGATAAGGTGAGGAACACCAGTGGGTGACTCGACCC
TGGATATCCACTCCTTAGCAATTAAACGGTTTTCGCGCGGAAGAACTACTGATGCCATTGCCATCATGCGGTGAGTGTGAAAG
GAAAGTGTAATTCATCCGTTAGATTCCCCGCTGAGGAAAGCACATGCCGCCAGTAGTCTCTCGATTTTCGACAGCAATCAC
ATCAAACACCGGACTCAACGTCCATGCCCTCTCAGGATATTCAAGGCTTTTCGAAAGTTTCTTATGAAATGCCGCGACCTCTT
TTTGGCTTACCTGACCGACAATAGGACCTTTACTAATCTTCTTTAGCAACACCTCCATATATTTATTTGCCATTTCAACCCTC
ACCTTATCCACATCGATTTCTTGCATCGGACGACCGACACCTGCCGCTACCGACTTCATATAATTTATTGCCGCAACACCTGA
CAAAGAGTCCCCCGCGCGCAACGCCATTTGCAAGGACAGCGTATTTGTCTCCTTTTTTTGCCAGGACATCATACATTGCATCCG
GCCCCCTTATCACGCAAAGCCTGACGTGCCTCATCCACATCGGACAGCTCTATCCTAATCATTATCGACTCCATATTTTACAG
CATTCATGAAAACTCACCCACCGTCAAAAACATGTTATGCCACTCCCCTAGCCGCCCCCATAAAACTCCACATTTACAATT
GCGTTGTCTCCGGGCATCAAAAACTCCAAATAGCAACGCGAGTAATTGGCCTTATGCTCGACCCAGTTGCAATAACCGATATA
TTGCATGCGCCCCCTTGGCCTCCAGCCAGAAAAAGCCCTTGCCTGATTAGGAAATGCACTATCAACTCCCTCGAGAAAATTTA
GACCGAGATCTTCGTTGAGTTGCTAGCCTGAAGTAGAGGCGCAGGTGTTTCACGAAGGTAATGCTGGAGCTGTTTTCTCAAC
CCCGCTTCCCCATGCGGCCAAGGCTCAATTCGCGACCGATATTTCAAAAACATAAAGACGTCGCCTCACCGTAAGAGACGGG
CTGCATCTCCGGCCAACTCATTTGCCATATAGAGTAGACACCAAGTTTGCACCACAGCCCTTTTTTTGTTATTTGTAATCCCGGCT
CCCAAGAACTCTTACCCTCATCTCAGGCCAATAGATACATACTTCTTAGGAGCTCATAAACAACACCCGAGATCTTTCCA
CACACCATTTGAGTTAGGGGTCTTCAGCTTCTTCGCGGCCCAAGTCGGAGTAATAACAATGGCGACCAATAACCACACCACACT
TAGCAACAACAACAACCTTGCTAAAAACCCACAGCACCAAAACCAATCTTCTACACAGCGCAATTAGCTTTCCGAACAGCACCT
TCCCAAAGAGAAAAGATATACCTATAACTAATCATCACCCCTCCCTAGAGCCAGCCTGCCCATATCAGCCACTAAGCAAACCTT
GCTTCAGACAAATTCATGAACTTTTCCAATTTCTTTCGTTACAACACGGAAATGCTGCTCCCAGCCCCAAACGCATCTGAACC
ACCGAGACCGACAGCACAGCAACTCGCCATACCAGCCAATATTATTCGACTACAGATCCGCAGTAAGCTCCAAGCCGCTCTAT
ATACAATGCAATCGCATTTTATATTTTCAATTTATCGCTCCTTCAGACTTTTCCTTTGTCATGCCGCTGCAGGGGACTCAAGAAGAAA
CTGATAACCCGCGCCTATCCACAATCACTTCTGCACGCACAGCCATGCCCGCCGTCACGGCAAGTCGTTATCCCTTACGCG
CAAAGCTTCCTTGGCCAACTTGATTTCGAGCGCTATACAAAAGACCGTGCCCTATCATCCTCAATGGCATCATCGGAAATACTCT
CCACCACCCCCGGTACAACGCCATACCTGGTAAAGGTGAATGTCTCGATCTTCACTTCCACGTGCTGCCCGGAAAAACAAG
CCGATATCTTTGTTCTCGACTTTCACTTCCACTTCCACCGGCTCGCCCGTCGGCACAATGACCATCAGTGTCTGCGCGGGTGT
AACCACCCCCGCCCTGTGTATGGATCGCCAACTGCTGGACGGTGCCGTCAACGGGGGATGTCAGTACCTTGAGGCGATGCCGCT
GCTCGGCCTTGTTCAACTCCTGCTCAAGGGTTGCAATGCGCCGTTGCGCCTCACCGTGAAGGTCGAGCATGGCTCTGCGCAGT
TGGGCAATGGCACCGCTACGGCGGTGCTGAGCAGCAAGCCGTGCAGCGTTAGTTTCGTCGATGCGCGAGCGCTGAAGTGCCAG
TTCACGCTCCTGCTCCAGGCGGGCCTGCTCCTTTTCCAGGTAGGTGTGCTTGGCCACCGCCGATTCACTGAACAACAGCTTGT
AATCCGCCG

6>chr1:3447406-3451182

PP3067-PP3068-PP3069

hypothetical protein- hypothetical protein- outer membrane



autotransporter

64	1	TGGAATCGCGCCTGCA	9.88	Ninguno en la orientación buena
399	-1	TGGCTCGATATTTTCA	9.20	
722	-1	TGGTACTTGCCCTGCT	11.78	
1996	-1	AGGAATATGATTTGCG	9.36	
2177	-1	TGGCACCCGAGGTGCG	9.42	
2424	1	TGGCACGTAACATTAA	7.03	
2725	-1	TGGTAAGCGAGTCGAT	7.76	

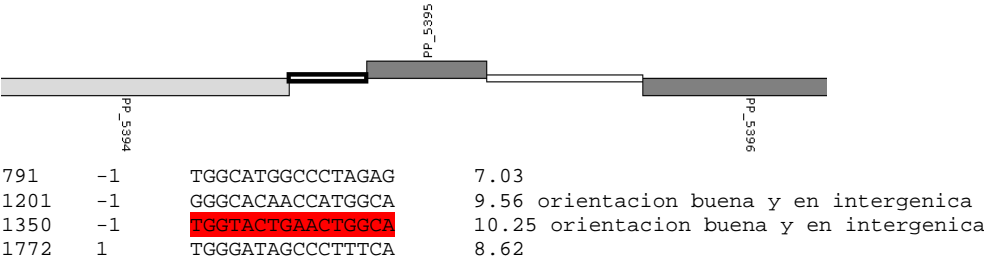
GGGAGAAGGCTGCAGCAGCAGCGCTCGATCAGCTGGCTGAAGAACTGGAGGCGCGGCGCGCCCCTGGAATCGCGCCTGCAAGGCC
CAGGCAACAAACGCACTGGAAGGAGATGGAAGATGCTCAAAAACTCAAGCTCGCCTGCGTGACCGGCTTGCTACCTCTGATCT
GCGGCTGTCTAGTCCCTTGTGACGCGCCGGATCCTTCGCCGCCCTCGGGTTGTGACAGTGGGGTTCGAGAAGCCACCGGCACCGGAA
GCGTGGTTTCATGGCGCCGTACGCGCCCAACTTGACCGAGCGCATGCTCAACGAATTGTCGCCATCACCGACGAAGGTGACCGA
GGACTGATCGCACTGCAGGCCTGCCAAGCCTATCTGCGCGCAATCTCTGACTGAAAATATCGAGGCCAAGCTCGCGGAATTGGC
ACTCCAAGTTGTTTCGAGGGGGAATTCCGTGTTTGGGGTCTTAGGTGACAGTCACTGGCGGCCCATGGGGAATATCTTCTTGAA
GCTTTCAAAATGGTTGTGCGCAATCCTGGTCTCGAATGCTGTTGGTGGCCGACTATTTCTTATCATGCGCGAAAGCACAGCAGAGT
ACTATTGATATCGTACGGAAGTATGTTAATTGCGGCGTTGTGGAGCAGGGCAAGTACCAATTTTCGGTATTTTTTCTCCGAGGGCTC
TGCGGCATTTGTCGAGAGAAGAACTATTATCTCTTCTTAGTGGTTTGGCATAATGTTTCGCGCCCGAGCGAATCATTATTAAATG
GTGTATTGAGTTTCTCTCTATTTCTGTGTCTAGCCTGCCGAGAGATTCTCGGACCAAGATAAGCTTTTGTGTTGATGCGTTT
GAGGTAAAGCTTTTATATACCAAATATCCTGCTAGAAGCGACGCGGAGGGCTTATCATTTCCGCCAATGTATGAACCAAGCGC

GCCCCAGTCTTGGCTGTTTGAGCTGATGTTTGTTCCTGCTTGTGAGCATTGTTATGAAATATGGTGCAACAGCAAAAATTA
C**TGTTAC**TAAAAAGGCTAGCAAAGAAATTTTGTGATCCATTTCATTATATTGCTTCTTGTTCATAGAAATCGTCTGGCTGTGAGGA
TAGCTGCCTTGCTTTGCTCTGAGCAATAGGTACGGCCGGAGTAGTTGGGCTGATAGAGGAGGTGGTACGGAGCTGTGGGCATG
CCTTGGTTTGATGCTGAATTTAGAAAAATACGATCATCATCAATGGCTTTAGGAGCTTTCCGCTTGGTCGGAAGCAATGACGGG
GCTTCTCTGGTGCTTGCTTGCTAGCCAGGCCATAACAGCTCTCCAGTGGTCACGCTAGCTTAAAC**ATGATTACGCCTCTTCCC**
GTCGTGGCGGGCAAAATGGCAGGATAGGCGCCTAGATCATGTAAGGAAGCTTCCCTTGAAATCCCTTTTCCCTAGTCACTTTCC
CAAGAGCGATGCCGATCGTAAGGCGCTGTGGGACGAATGTATTTTCGTTTTTGACACGAACGTTCTTACGAGCTTGTACAAGC
GGTCTGATGAGGCTCGATCGGCACTCCTCGCGATTATAAAATCGCTGGGGGATCGGGTTTGGATTCTCACCAGGTCAATTTAC
GAGTTCTTCCAAAATCGACCTGCTGTAGCTCACCAGCAAGCAGCCATGTACTCGGATGCAAAAACGACACTCGTCTCTTTTTT
GGGGGAATTTGAATCAATTACTAAACATCCCTTCCCTCAGTAAGGACTTGCAATTCACGTTTTCTTCAGGTGTCCAACAGTGTCA
TTGAGGAACCTTCAAGCGAAAAGCTGCCGCTTATGATGAAATGGTGGTGAGCGACAGCGTCAGGGACGCTCTCGCTGAATTGCTC
GAGGGGAAGGTGGGTGGGGAATATGATAAAAAGAGGCTTGATGAAATCATTAAGGAAGGGGAGTCTAGATACGCAATCATAT
TCCTCTGGATTTTGAAGATGCAAAACAAACACAAAGTTTCGCCAATTTTTGCTCATGTGCGGGCGCGGTTTGGGGATCTGATCC
TCTGGAAGCAGATTATTGATTATGCGAGTGAAAGAAAGCTACCGGTTATTCTGGTGACCGGAGACCAAAGGACGATTGGTGG
CTGCGCACCTCGGGTGCCAAGACGTTGGGGCCAAGACCTGAGTTAATGGATGAGTTCAGAATTAGCGTTGGCGCTAATTTCTA
TATGTATAGTCATAGCAAAATTTTAAAGTTTGGCTAATGATTATCTTAAATCAGCGTACCTCTTCAACGGTGATCCAAGAAATTC
AGGACGCAGCCTTGAGAGTCGGCGATTGAAGAGCATGAAGAGGAAGAGTCGGCTCTGGAGGAGCCAGAAGATATATTTAGATTT
AATGAGGCTCGCCACCTTGGCAGCTAACA**TTAA**GCATATAAGTGCGAGAATGCGCAGTATTTCGTTCATGAGCTTAATAGGAATTA
CATTGCTATCAATAGGGCGCGAGGAAGACACGCTAATGATGAGCTGGAGGTGCTAAAGATACGGCGTAAGGAACCTGCTGCAAT
TATTTTCTGAATTTGAGAAAAAGGCGGCTAGTTACGAGTTGGAGCTGACACAGCTCACAGGGGATCAGAAGGCCTTGCCCTC
GATCCTCTGGTCTAGCGATGTCTCTCCAAGGAGCATGCTCTCAAGCAGTTT**ATCGACTCGCTTACCA**TTTAGTGTGTGATA
AAGTTGCCGTGAAAAGGCGAGGCGGGTAGATGAGTTAACACAGCTTGACCCGCCTAACCTTGATCGCCCTCTTATTCGATCA
AGTGGTAGTTCGCTTCTGGTTCGGGGATCAGCTGTAGCCCTCGGCAGCTCGTCAGAACGGAGGGGAGGGTGTCCAGGAAGAAA
ATGAGCCCTTCTGCTTCAAGCGCAAACGCGAGCGCCTGCATTGTGACGCGCCGAGCTCATTTCGAAGTTTCGATCGTGGGAT
CGCGTCTGGGGAAACGCTGAACGAAATGCGAGTGCTTCTACACTCCACTCAAGGGCTAGGCGTGAAGGCTCGCAGTGCTCTG
AGCGGAAACCTAAAGGGAGGTGAGCGAAAAATTTCTTCGATCTCTTTGGGATGCCCTTCTTCATGGTTCGGTGTGCGGAAGGTA
ATGATGTGCGCCGTCATGGTCACTACTCGCTATACTGTATGCATGAACAGTATAGCGAGAAAGCCATCTTAAGCAATGTATAC
GGATCAAGGCCTGCTTAGGGGAGGAGGGTGGTTATTCTAAAAATTTATATTATCAGTCGCTAGGTAACCCCAAGGCCATCCTG
ATCTTTACCGCTTCTGCGCAGTTCTGCTCGGTGAGCAGCAGCCCG**GTGAGTGAGCAGTTCTTTGGCTGGGTGTGTT**
GTTCTGCTGCTGGAATGGGCGGCCATCGCCATCTACTCAGGCCGGGCGCCTACATGCAGCGTTGGTTCAGCCAGCCCGGCC
CACGCCGAATGTTCAACCGGGTCAGCGCGTCTTGTGGGCTGCGCAGGTCTCGGTCTGCTGGCTGCGCGCCGCTAGAACTGC
CAGCGCACGCCAGGTTACGCGCGTGGCTTCTGCTGGCGGCTGTCCAGGTTGGCGGTGTACTGCACGCCGCCATGCAGGCT
CAGCGCTTCGTTGACCTGCGCTACCACACCGCTTCCAGTTGCACTGAGGTATAGCGGTAATCGGTCTTGATCTTGTGAGCGT
CATCGAAGGTCAAGGTGTGCGCGCCACCGTCGCCGTGCCAC

7>chr1:6149390-6153053

PP5394-PP5395-PP5396

hypothetical protein- hypothetical protein- ISPpu14 (transposase orf3)



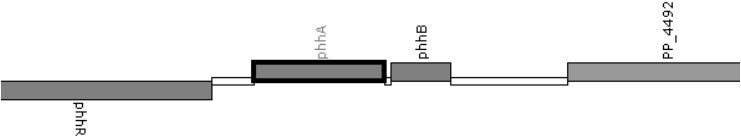
CCCGCGCGACCATCTGCACGATTTGCGAGAGCACTGTCTCGGCGCCGACCTTCTGCGCCGCCATCACAAGGCTGCCGTGGGTA
TTCAGCGTGGCACCGATGAGTGATCCCCCTGCTTTCTTTCATCACTGGCACGGGCTCGCCTGTGAGCATGGATTTCATCGATAGC
ACTTTTCGCCCTCCAGGACCACCCCGTCGACCGGCACCTTCTCGCCAGGGCGAACGCGCAGGTGGTTCGCCCGTATGCACGTGGG
TGAGCGGAATATCTTCTCTGACCATCGGCCCCGATGCGACGGGCGCTCTTGGGGGCAAGGCCAGGAGCGACTTGATGGCG
GCGGAGGTTTGTGAGCGCGCCTTGAGCTCGAGCATTGGCCGAGCAACGTTAATGAGATAATGACTGCAGCCGCTTCAAGTA
GACTCCGATGCGGCCATCCTGCATGAAAGTCGTGCGGAAAACCTGCGGGAACACTGTGGCCGCAACGCTGTATAGGTACGCCG
CAGCCGTACCCAAACCTATCAGCGTCCACATATTGGGCTGCGATTACGAATCGATGCGACCCACGCACGAAAAACGGCCAG
CCCGCCCATAGGGTCACGGGAGTGGCCAGAATCAACTCCACCCAATTCTGTGTGGCACCATGCAGCAATTGGAGTTGGTGGG
AGTCATGGCCAACACGGTCACGATGACCGTTCAGGGGCAAGGTCCACCAGAAGCGGCGGGAGAAGTCCTTGAGTTCCGGGTTCT
CGTCTTCTCAAGCTCCGGTATTACCGG**CTCTAGGGCCATGCCA**CAGATTGGGCAGCTGCCCCGGCCACGCTGGCGGATTTGG
GGATGCATCGGGCAAGTGATTCGGCGTCCGCCGCGTTGCTTGGCTGCGGGGACCGGAGTGGAGATGGCCCGCGTGTCTTG
GTCCTGGAGAGGGCTAAGATAACGCACAGGCGCTGCGCGGAATTCGTCAGGCACTTTTCACTGCAGAAGCGGTATGTCCTTC
CCTCGTATAGCTCGAAGTAGCGACTATCCGGTGGCACCCTCATACCGCATACCAAATCGCGTGACTACCATCCGGTTGCTCA
TGCGGTGCGAGTGGTTCATGGTCTGGTGGCAGATTGGTGTGCATGAAGTAGTTCCCTTTGTTGTCGGTTTGGACGAGTT
TTCACCTTCTGGTGAGAATACCT**TGCCATGGTTGTGCCC**GAAGAGGTGCGTCAGCGGACAGAGCAACAAAACTAAATAAGTGT
AGTGCCGTGTGACAGGTGGGCATAGTGCTCACTAACCATATACAAGCCAAATATGGCCAGCATGATCAGTGCATACCGCC
AGGTAT**TGCCAGTTCAGTACCA**TGGCGATGGGCTTTGTTCATGATCGATCCCCAAGCTGGGAGTATCGGCCGCTGCCGTATTGC

TCAGCCTAGACAAGATCTCCTTGTTGAGCTGTGACGCTAATCAATGCTCCTGTATGGCTGCAATGCGTTACTGCAAAACTCTA
CTCTTCCACTCGCCTCAGCACTCAGATTATGCTTGCAGGTAGCCCTTAGCCATTAGCTGTCCATCAACGCTAAGGATCAGCCG
CTGACATGGAGGTTGATAGTGAAGTTCGATCTAAGGAATGCGATCAATAGCATATCTGACGTGGTGATGAATCGACCCGCCCC
CTTGCGCGAGTTTCGACCAGATCTACATGAAGGTCGCGGATATGGTCATCCAGGCCGAGTACGTGCAAGGGTCTTCGACGGGA
AGAAGGTGGTCTTCGTTGGTGACGGCGATGGGATAGCCCTTTCA GCTGCGCATCTCAAAGCCCAGGAGGTAATCAGCTACGGG
CCAAAATCGATCACGCTCCTGGATTTCGATGAGCGAATCGTCAACTCAGTACGGCGATTTCGGTGAAAAACTAGCGCCCAAGAT
CGAAATCACTGCCCATCTCTACAACGTGGCTGACCCCTTACCTGCCGAACATTTTGGGGCCTACGACGGCTTTTCATATCAACC
CGCCCTGGGGAGCGAGCAACGGCGGCCAAAGTGTGACGGCGTTTCTGGAACGAGGCAGCCAGGCAACCAACGAGCGAGGTCTT
GGCATCGTTGTCATTGCCGATAACCCGATCTTCCATGGACACAAGAGGTGCTCAGAGATACTCAACTCAGGGCCATCGAACT
GGGTTACGTCTGATGCCGAAATGCTTCCACAGCTTCATCTCTACCACCTCGATGACGCACCGGACCTTCGCTCCTGCTCATGCT
TGTTCCGTAGGGTGGTCCAGGTCTGATGGAAGAACCTCGGAGAAGCTGTGAGCCGAACGCCTCCGAAATTTCTACGGAAAG
GACAATCCGTGATCTACAAGCACGTGCGGGAACCCCGAGCCTCAATGTGAATCGTGAGGCAGAGCAGCGGTATTCCCTCGA
ACATTACCAGGAGGTTCCGGATGCCTAACCCGCTTGCGAATGGCCAAGGCGTGATCTTCATGAAGGTAGGGCTTCACGCTTCC
GAGACCCTAGAAGATATCGTGGAAGGAAGCGTCGAGAGTTTGAAGAAGCCGGCTCAATTTTCTGGGGGTACGGAGGAAGCTC
CTGCCATCCTCGCACGATGGTCCAGCCCTTCGGCAGGGCTATGCAGGAAGAAGGAAAACACCTCCTGATCATCATGAACGAGA
TGAACTCCAAGCACTCGGCCCTCCGGTTGCTGCTTCCCAATACTCTGAAGATGGTGTGACTGGCAGGCGGTTCCAAGAGGT
ATCGAGGTACGTGGTTACGGTTTCGCGCTTGTCTGGATGAACGAAAACGGAGGAGTTTGAGGTCAACCTGAACGACTTCCA
TGTCGGTGTAGGCCAATCGCGTGGGCGAATTCGGGCGGATTATTTGAAAGGGCAGAACGACAAAGGCTGCCTGATCTATAACG
AGCCCCACATTCCACCACCTCCTGAGCAGCGAATCATTAAGCAGATTGGTTTGGTTGCTCGCGTCAAACCCCTTATGCGGTG
TTCTCAGGGACTGATTAAGGAGACCCAGGGATGGGAAGGCTTATCTATTTGACCGGAGCACCAGCTACCGGAAAATCGACGC
TGACGGAGGGATTGGCCAGCTTGCCCTGGCCAAGTCCGCGTATTTACCTACAGCAGAGAGCTGGCACGCGTCTTTCTGAGCGT
GTAGGCCAAGTCACGCAAGACGATATGCGAGAGAAGTCCGCACTCTGATAACGCGCCAAGATGTCGACCGAGTCGACAGGGA
GTTAGATTGCGGTTGCGTCAGCACTCAAAAAAGAAGGCGGCAATCTCGTCTGCTGACTCTCACCCGGTTACGATCGAAACATTG
GTTTCAGGGGTGAGCCATTTGCAAAAGCGCAGTTGCATGACCTCGCGCCAGACGTAATTGTGTGCCTCTATGCGGATGGGCAG
ACACTTTCCGATCGAATCAAGGCAAACTCTGCCGCTCGCCGCTTGCCGAAGGCAAGTGAGCTGGACCGGCATGTCACCCTTCA
ATGCGAAAATGGCCTCGCTGTAGTAAGCGTCCGCCAACGCACCTTGCGTAAGTCAGGCCGATACCCACTGATGCGGCAGCAGT
TGCCCGATCTCACTGGCCCGCTGTGTCGGCAACCGCGTCAGCACATCTTTGAGATAGGCATACGGATCATGCCCGTTTCATGCG
CGCCGACTGGA

8>chr1:5101262-5103872

PP4489-PP4490-PP4491-PP4492

phhR (transcriptional regulator)- phhA (phenylalanine 4-monooxygenase)- phhB (pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase)- putative membrane protein



PhhR binding region 1,2 upstream of phhAB operon 5'-TGTAAN(6)TTTACA-3'

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19781550>

18	-1	TGGCGTGCGGTTGAT	11.72	
1089	-1	AGGTACACACGTTGTT	9.15	
1390	-1	TGGAACTTCGGTGCA	7.36	orientacion buena . una caja
1954	1	TGGCGCAGACTTTTCA	9.88	orientacion buena . sin cajas

TCATCAACCCGCACGCCAAGCAACTGCGCGGCTGCACGGTTGGCCGCAACGATGCTGCCGCCATGTCGATCGACAGCACCGG
GAAGTCCAGCGCCCCCAGCAACGCATTTCAGCTCCATGTGCCGGCGTTTCGCTGGGCATCAGGCCACACGCTTAACGCCGAATA
CCCCGGCAATGGCCTCGAACTTCGGCCGCGAGGGCTGAAATTGCAGGTTGATCAGGTTTCGGGCAGTGCAGGTAGATGGCGTTG
CCATGATCACCGCCACCTCGCCGCGCAGTACGTTGATGCCGTACTCCACCAGCAGGTTGAGGATGTCGCGCAGGATGCCAAT
GCGGTTCTGGCAATGGACTTTGATACGCATGAGGGCTCTCGAAGCGCTGATGTTTTTCAACACAGCGCGGAAAAGTCGTAAAG
ATAAGCTGACAAAACTGTGTTTCCGCCAGCCAGATGCCTCGAATTTTCCGACACTTGCCGAGTTTGTAAAATTATCGTTAC
GAAAACCGACGTGCGCACACTCCGCGGCCGATCCGCGCCCCGTGCAAAACCTTGCGCAAGGGATATTCCCTTTAGGCATGTC
CTGCACATAACAAGAAAAGCCCTCACCAGGAGAGCCTCATGAAACAGACGCAATACGTGGCAGCGAGCCCCGATGCGCATGGT
TTTATCGATTACCCGCGAGCAAGAGCATGCGGTGTGGAACACCCTGATCACCCGCCAGCTGAAAGTGATCGAAGGCCGTGCGTG
CCAGGAATACCTGGACGGCATCGACCAGCTGAAATTGCCGCATGACCGCATTCGCAACTGGGCGAGATCAACAAGGTGCTGG
GTGCCACCACCGGCTGGCAGGTTGCCCGGGTTCCGGCGCTGATCCCTTCCAGACCTTCTTCGAATTGCTGGCCAGCAAGCGC
TTTCCGGTCGCCACCTTCATCCGACCCCGGAAGAGCTGGACTACCTGCAAGAGCCGATATCTTCCACGAGATCTTCGGCCA
CTGCCCCTGCTGACCAATCCCTGGTTTCGCCGAATTCACCCACACCTACGGCAAGCTCGGCCTGGCCGCGACCAAGGAACAAC
GTGTGTACCTGGCACGCTTGACTGGATGACCATCGAGTTTGGCCTGATGGAACCGCGCAAGGCCGCAAAATCTATGGTGGT
GGCATCCTCTCGTCGCCGAAAGAGACCGTCTACAGTCTGTCTGACGAGCCTGAGCACCAGGCCCTTCGACCCGATCGAGGCCAT
GCGTACACCTACCGCATCGACATTCTGCAACCGGTGTATTTTCGTACTGCCGAACATGAAGCGCCTGTTTCGACCTGGCCACG
AGGACATCATGGGCATGGTCCATAAAGCCATGCAGCTGGGTCTGCATGACCCGAAGTTTCCACCAAGGCTGCCTGAGCG
ACCTTGCCGATAACAACCTCGAACCGGAAAACACCTCATGAATGCCTTGAACCAAGCCATTGCGAAGCCTGCCGCGCCGATGC
GCCGAAAGTCACCGACGAAGAGCTGGCCGAGCTGATCCGCAAAATCCCGACTGGAACATCGAAGTACGTGACGGCCACATGG

AGCTGGAGCGCGTGTTCCTGTTCAAGAACTTCAAGCACGCCTTGGCGTTACCAATGCCGTGGGCGAAATCGCCGAAGCCGAA
GGCCACCACCCAGGGCTGCTGACTGAATGGGGCAAGGTCACCGTGACCTGGTGGAGCCACTCGATCAAAGGCCCTGCACCGCAA
CGACTTCATCATGTGTGCACGCACTGACAAGGTGGCGGAAACGGCTGAAGGCCGGAAGTAAACACCAGAAGGAAGGGGCCAGA
GGCCCTTTTTCATGGGGCATATGTGCGCTGTTTCGCCCGCAAACCGACAAACGACCGGGAAAAAACCAAACGTGTCATCCA
GACTTGTGTATCCTGCCCCGAGCTTTTTGAAGCTACAAACGCGCCTGGCGCAGACTTTTCACTCACACTTGCAGGAACGACGA
GATGCATGAAATCCCGAATCTTCCCTTCCCAAGCCTGAACCCAGAAGAGCCATCCGTGACCGTTACGCCGAACCGGCAGCTG
CCGCCGAGCAGGATGGTGACGATCAATCCAGCGCTGACCAGGAATAACTGCGCATCCCCGACTGTGTGAAAACGGCTGACCTG
CGGGCTACCCCCGTCATCACGTTTTTCACACCGTCTAAAATCAACGTTGTAACAACCCACTACCACCTGCCCCGCCCTCTCCC
ACACAGACTCGTGCTCCTAACGCAAAGAGGCAGAAATGCGCCAGCCGCTCAAGCGCTCGACGCCCTGCTGCATTCTGTCATG
TTCACCCGATGGGCCGGCTTTGTCTGTGCGCTTGGCGCTGGATTACTTGCAAGCCGAGTTTCACTGTGACCTGGATGCTCGA
TTACACCCACTGACTACAGGCTGACAGCTGCGCCCGCAAATACCTTGTGTGGTTAAGATGGCGGCACACAACGCCATCCTT
ACCGCAGCAACGGATCCCCAATGCCACCACGCAGTCCACGTCCCTTGCCGTCACTGGGCAAGTCGTCTCCATCGTCTCTGTTT
ACCTTCATCGGCTACCTGAACATCGGCATCCCTCTGG

9>chr1:2597945-2600532

PP2276-PP2277-PP2278-PP2279

Phage exonuclease- hypothetical protein- hypothetical protein- binding protein head to



tail

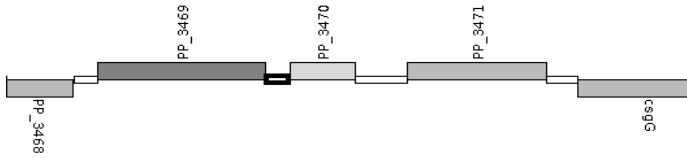
1637 1 TGGTCGATTTCCTTGCT 10.52 dentro de codificante
TGGTTTAGAAATTGAT 9.3

GTCCATCTCCAAGCCACCTTGGAAGGCGATGACGTGTGCGGCATTCTCCTGACCCGAGCCCGAAAGTTCGGTGAGGAAATCG
TGGTCGCGTCCATCGACAAGGACTTTAAGACGGTCCCCGGCCACCCTACAACCTCAACACAGACACGTTCTTCGAAGTGACC
GAGGAGGAGGCCGACTACTGGCACCTCTACCAGACCTCATGGGCGACACGACGGACGGCTACTCAGGCTGCCAGGCATTGG
GCCCGTGGCTGCCAAGCGGCTCCTAGACAAGTCGCCACCTGGGAAACCGTAGTGGCTGCCTTCGAGAAAGCTGGGCTCTGCG
AAGAGGAGGCACTGGTGCAGGCCCGCTGGCTCGCATCCTTCGCTCCTCGGATTACGACTTTTCGATTAAAGAAAGTGAACTT
TGGTCTCCTGAATAAATTACAAAGAGAGGATTTATGAATTCTGAAACTGTAGAGGCTGCCGTAACCTCAAAAAGTGACTCTGT
CCAGATTGGAGGTTTCGCACTATCTCAAGTCCATTTCAGCCGTTTCGACATCGTAAGAGTTTGGGGTCTTGGTTTTTTTCGGGGGA
ATGTTGTAAAGTACGTCTTCGTTGCCCTTGATAAAAAATGGAAGGAAGATCTTATGAAGGCTCGGCACATCTGGATGTTTGT
ATTGAGAGCTACGAAGAGTTACGGGAATCAACTTTCTAGGTGAGAGCGTATGCGGCTGTTCAGAGAAGTACGAACGTGCGGGG
TGTTTTGGCTTCCAGCAAAGCCGAGCGCAAAGTTCCAGGGGTTCTAACTATTGCCAATGGTGGAGTTGTTGAGCTCAGTCTA
CATGGTAGCCTTGATGGCGCGGATTAAATTGACTCGCTGAGATCTCCGGGTCTAATTACATAGGCCGAATAGTCGGCGAGGT
TGTTAAGGACGGCTATGTTACATCGAAAAGTGCCAGTACGCCAATCGCAGCTTTTCACTAGGGAAGGGGCTTTTCGAAAATA
GAATCAGAGCCACTCAAGCATTTGTTGGTTTTGGTAGTAATGATGACTCTCCTATTGAGATAAATCATTTTAGTTTCAGGGTT
GATGGGGCCGACGCATGGTTTGCCAAAACGTTGTTTTAGAAATTGATTTTGGTGAGGACAACGAATTCATGCAACCTATACCCC
GCTTAAGTCTATAGTCGCGCAGATCGAGGACTTCAAGCTGGTGATAAGTTTTGGTCATTTCGATTACTCCTTCTCAGTTCTCGC
TTAGCCTAAATCAGAAAAGTGAAGTTTGGAGTTAGCTCAGATCGCGAACGGCCGTTTCAGATTTTATGTCGGCAGCATTTAAG
ATCACAACCTTCATCTCGTTTGATTTGGATTTGATATTACCGTTGGTCTTCATGATGTAAAGGTTGGAAGCCGATCTCTACAGAAGA
AGTCCTTGGTGTGAAGCGGCTTCTGGAGTTCCAGCTGTATTACTCCAGTTTGGCCGAAGTTTTGGAAGACCCGGAAGTCGGGA
AAAGTGTTTTCTATTTTTTGTACCTTGATGTCGAAGATAAAATTCGACAAGGTGTTAGGTGACTGGTTTCGCTGCTTATGAGAAT
ATTAAGTCTTCACTTTGATTTTGTATTTCTCCGTAGCTACTGGCGCACACCGTTACACAGAAGGTCGATTTCGATTGATTCA
AGGTTTGGAGACCTTCCATAGAACCATTAGTGACGAAACCTTAAAGATGAAGCTGTTTTTTCGAAGAGATTTGGCTAGGGTGC
TATGGAGTGCGCCAAAAGACTTGCGTAGATGGGTCCACGGCAGGACTCGCTATGGGAACGAATTGACACTTGGCACACGTTTG
AGTCGAATCATGAAACCTTTGCCCTCCAGCTTGGGGAATGCAAAGCGAGAAGCAAATTTGTAAATGGCGTTACAGACACAAG
GAACTATTTCACTCACTACAATCCTACGTTGAAATCGCGGGCTTTGGATGGGGTCAACTGCTCAGGGCTTCATACAAGCTTG
AGGCATTGTTCCAATTGTGCCTACTTCAAACCATAGGATTTACGGAGGAGGAAATTTCAAAGCTGATGAAGCGCTCACCAAAG
ATCAACCGAAAAATGAGCATGTGACCCCACTGTTTTGTGGCTCCAGATGTCGTGGGGCCACATTAGGATTACTGAGCCGTGAA
AACGGAAAGATTCCCCAACGTTCCCCGTGAGCTGCTGGTGGAGCTGGAGAAGCGATTCCCCAACGTCCTGCCCGTAGACCCTC
ACATCACCATCAACGAAGTGAACATCCGTCAAGGACAGCAAGAAGTCATCCGACTCCTGCGAAGCCGCTTCGACATCCAAAAC
ACTACTGTTCTGGAATCACAATAATGTGTTTCGCACTCAAGCACACCTAAGACGACTGTAGCGGGCCCCAACGCCTGCCCCAGCC
ACACCCACGGTGAGTCCCGCCTGCGACAAGCAACACCGCAGAAAGCACCTACACCCAACAGGCTCAGTCCGCAGCGAATGG
GCGCAAGTCCCTCCGCATCGACCTGACCCAAGCATCCACAGGGAGTAGCTCTTCGGGGCTGAACATCCCTCTATAACGAGACC
CCATGGCGAAGACC

10>chr1:3935711-3939331

PP3468-PP3469-PP3470-PP3471-PP3472

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- csgG (curli production protein)



Rho-independent transcription terminator TERM 3157TTCAGCACAGGCCGCTGACCTGTGCTGAA

40 -1 TGGTGGAGCGTTGCT 10.17 orientacion incorrecta
2002 -1 AGGCCTGTGTATTGCA 11.53

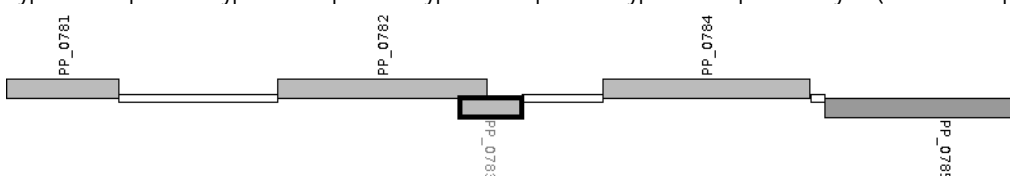
CCAGCCAGTTGCTGCCTCTCATCCAGCAACGCCTCCACCAACCGCCTTGGCCGAATCCAACCCATGGTCATTGCTCAACAACA
ATCACGGCAGGTGCCCTTGGCCAGTTCCAGCGCCTTGAGGTTGGTCGCAAACGCCCTTTTCAGCAGCGTGGACAGGTGCACCA
GCGCATCTTCGTAATCCACGCCGGAACGAACGGCGAACAACGGTGGATGGCTGCATTTCGAGGTGGAGAACTGGAGGCCGCC
GTGGTGGCGCGTACAGGAGGATCAGGTAAGCCTTTTGTCAATTGTGTGCTCCTTGATTCACTGGAGTGGGCAATTCGTGCATC
GGATAGCGGGCACGCATTGCGCTTTCAGGTTCAATGGGTATGGCCGAAACTTAGGACTTTTGTCTCAATCCACCGTTGCCAA
ATCACCCAGAGTCAACTGTCAAATCTATCAGTCGCCCAAGAGATATTTCTCGACCATACTCCAGCCAAAACCTCGGTAGATCT
CAATGACCAGCCCGCAGCATCTACGACACTTCTACATGCATACGCACTTACACTCGGTGCTGACAAGCGCTGCCAGCGCTACG
TTCTTCCGTGACAGCTCCGTAGTACTGGCCGAATTATTTGTGTGAAGCCAATCAGACAGCGACCACGCTTGTAGGCTCTGACAT
GGCCAGATCACCCATAACCCGAGTACGGAAAAACACCTCCTTACCAGAGGCTTACACCTCATACGGCTACGAGCAACCGCCAG
AGCCACGCTCAAATTAACGGGTTTTACCGGCCAACCCGATCAGTATCTGCACATTTATACCTGATGGGCAGTGGGCGCCGT
GCCTATAATACTGCCCTCATGCGCTTCTGTTCTCCTGACTATCTAAGTCCATTTTCGAAAGGTGGGATCAACGCTTACGTTTA
CTGCAACAATGACCCCAAAAATTACTCAGATCAATCGGTGCGCTCAGGACACCTCACCTAGGTACCGCCACGCTCTGCC
CTCTGAAACAGATAGCCCCGAGAAGCAAGGCCATGCATAAAACACGCCCTACCACGAACCATGTGGAATTTGAACCTGTGAA
GAACTTATAAGCAAAACAACATGACTCCGATGCTACGATACTAGAAAAAGCAGGCAGCGGGGCCGTGACAGACATGCAGTTAAC
TAATGATCAAATAAACTCCGCATTCCAGCCATACACGCCAAAAACCGGCCCTCAACTATTTATAAACAACCAACACCCCAA
ACATTACAACCACTGAAATTGACGCCCTCAGACACCATAACCAAAACACCTCAGAAGCGATCTCAAATAACATCTTAAACCAC
TGGCTAACTGCTCGGACACTCAGTCTACGACCGTAACCTTTCTAACAGACGAGGGCATAACCCCTAAAGGAAGCGGTAAAAAT
TGATGGCCGTCTTAAGAACAGATTGCAAGCTATCCGAAAAAATCTAAGGCCTCGCTGACAAAACCTTTAAATAGCCTACTGCA
AATATCTTATATCACTACTCTTCTAGAAATTTTCCGATCAAGTCAACACAGACCGCTCGACCTGTGCTGAAATCGCCCTCC
GTTTCAGCCACCCCAACAAGCCTTGCCCATGGGTGAGTGGGCTTTTCCGATTTTCAATGCGCCGTAAGCGCAAGCAACCCG
CCGTGAGCGTTTCTTGCCGAGATGGATCAGGTCTGACCGGGAGCGGTTTGTCTCGCATTGATCGAACCGCATTACCCAGAGG
CCGGCGGTGGCCGCAAGCCGTACTCACTGGAAACCATGCTGCGTATCCGCCCTACTGCAAAACCTGGTTTTCGCTGAGCGATCCG
GCCATGGAGGAATCACTGTACGAAATCACTTTGACACGCCAGTTTGTCTGATTGACGCTCAGCGCGCCGATTCCCGAAGACAC
GACGATCATGAATTTCCGGCGCCTGCTGGAGAAGCATCAGCTCGCGGCAGGGATTCTGGAACCATCAGCAACTAACCTGCAAT
ACACAGGCCTGTCGTTGCGTCAGGGCACGAACGTCGACGAAAACGCCGGAGCGATTCCCTATCAATCCGCACCATCTCATTTCG
GGGACCGTCCCCCTCGCGGGCCATATACCAGATCCTCTTTGAGCGCCGGAGGTGATATTAGGTAAGCACTGTGAGAGCCACTGG
CATGGATTAAACCGGGGGCCACACACCCCAACAGTAAATGTCAACTGTTTAAAAATAACGATTGCGGCACGTTATTCTACTAAT
CTATATATACCTACAATATTAATAAAACAGGGGCAATGATCGATGCTACGCTTATACCCCTATGGTTGGCAGATGGCGGCTA
ACCCTCAACCCCTCGCATTTCAACGATCAGCGGTTTCGATAAAACATCCGATGGATATTTACTCGGAATGGTTCGGCGCGGATAC
AAGCCGCGCTTGATGCGTTTTTGTTCGCGGACAAATTTAAGTCCATTTCAATCAGGCGGCATCAACAGCTACGCTACTGCCA
AGGAGATCCGATCAACTTTGTTGATCCAAGTGGCCATTCCGGCGTTCTGCCACTACAAATTTCTGGCCGCGCAAAAATTACCGC
CTTCGTCAAGGCCAGGAAATTTAAGAGCATCCAACCTGCGGTTCATCCCAATTAATGTTTGTGATTACATAAACTATTAAAC
AACAAAAAGCCAAACCTGTATACCATGGAGACTCTCGAGATATTTCAAGGGACCACACACAGATATCATGATCCGAGAGTCGGC
ACGTGATGCTTTCAATTTCGGCTAGAAGCAAAGATTTTACGCCATCTAGTAATAAAGGAGCACCGAGACCGCTTAATATTAGCAG
GCATCGACAAAGTGACTTCAAAGCAACGAGACCAAGCTAGAAATGCGATATCTCTTGGCACCCACCGACAGACCCTGAAATC
ATACCACTATACCGTGGATTGCTTGAATCCGTAACCTATATGGCCCCCTACAGTGGGTTCCTACTACTCTAATCAGCAGGCC
AAGTGCCTTTCACGGGCGCAACTATCAGGAGCAGGTAAAAATACCTAAGAAACAGCATGCACTCATCCATTTCAACACCTCAC
CAACTCAATGAAAGCCGATCGCCTAGCCGTTAGCTTATACTATTGCCTGCATCGAATAAGCTAAAGTCTCGAAATGCTTTAGG
AAAACTCCAATCAAGTTGCCCGAAACCTGAAATTAGCAATGTTTCAAGAAAATTCAGCACAGGTGAGCGGCCTGTGCTGAA
TTGATCAGAGCTTCCCTAACAGTCAATCACGGCTGCTGATTTCTGGCTCAAGAACTTGTCCACCGTGGCTTTGCCATCAGCTGG
ATCCCCCGCCACCTGCCACAACCGCCGCTCGATCCCCCTGCGCCAGCAAGTGCCCCACCGCCGCTTCGATCGCCGACAGCACGC
ACAATGCGCCGGTTCATTGGTGGTATACCCACCTCGGCTTCCAGCAGTTTCTTGAACCTCGATGAACCTGAACACCCCGGCA
CTGCGCCCCACCGAGTAGATGGTCTTGTGTTGTCATCAGTTGGCCAGCACCTGCCCGGTGCGCACGTCCACGGCGCGCAGGTT
GACGGTGACCTGGTCCACCCGTTACTCGCGAGAGATGTCGATCCCCAGGTA

10,2

11>chr1:898119-900797

PP0781-PP0782-PP0783-PP0784-PP0785

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- CysZ (sulfate transport protein)



AGGGAGACACCTCATGTACCTGGATTACCTCGTGCCCTCCTGGCACGAGATCGAGTCACGTGTATCGCCATGGTGGGCTACC
CAAGCGGTGGCCAGTTCCCGACCAAGCCTCAATGAAGAAGTCGCCCTCGCTGGGCCCTCAACCTGCGCCGGATCGACGCTGTGCGC
TCAGCCTTCTACCAAGGCTGAATGGCAGACGGCGCACATGCTACGCCAGCGCTTCGTGACCTCGACATCAACAGCATCGTCGA
CGAACTGCTGAGGGTCTGTCAGCAGATGGCGATGATCGTCTGTCGGCAGCACCGTTACCGGTGGCCTGCTTGGCGCGGGGTAGG
CGCATTGCGCCGGCGGCGCCGGATACAAAATAGGCGAATTCAAACGACAGTTGAATGGCCAGGAAGACGGGCTCAACTGGATGA
CCGTTGAAGAATTTTGGAAAAAGTTGAAAACCCAAATCAGCGCAATAAAGGGCTCGCCAGAGAGCGAGAAAAAAGGAGCAA
GAATTTAAAAAATTGAAAAAGAGCTCAGGAAAACCATGGGCCCATTTGAAGCGCAACGGGTGCAATAGAGAAAGCCAGAAAC
CGGATGTCAATTACAGCAGCACTGCACAATCCGGATCTCGTCTGCCGGAGGTAGAGACGTCATATCGGACTTTGGGGACCGCCA
GGTAAACTCAGTGATAGGCGCCCAATGGAAAACCAGGATACCCAACCTTAAAGAAAGCGGCCGAAAGGGTATCCCTGGAGTCCA
GAGGCTCAATCCGCATGAATGTCAAATTACATAAGTGCTAAGGTGAGAAGGTTGAAATGGATAAAGTACTTGCCAGTTTGATT
GAGAATTTCCGGTCCGCCGATTGACCGCCGGGAAGTACCTGGCTCCACAATCGAAAGATACAGAGACAAGCTTCCTCCCAAGCT
TTTGAATATTGGTCCGAGCATGGGTGGGGGGGCTACGGTGAGGGCATATTGTGGCTCGTCAATCCGCAAGAATATGACGCCG
TAGTTTCTGTGCTGGATTGCAGGCACGACAGCTATCATTGGTTGCAAGAAGTGCCTTCGGGAGACTTG
TACCTTTGGGGAGAAAAAAGTAGATTTTTCATTGGAAATAACAAGCGTTGGGTCTCAGTACATATTTTATCGAACTGAATTAC
AAAGGAACAACATAACTGAGCTTGAAGGCTTTTTTTTGTCAAAAGAAGTGGAGTCAATGGATTTCAATGGTCTCTTCAATC
CCGCCAAGGAAAAAAGTGGGTAGACTTAAACATGACGAGATGTACGGCTTTTCCCGCGCTCATGCTGGGCGGGGTGACTCC
CTGCAACATCTTAAAAAAGTCAGCGCTGTTGAACACTTGATCTTTCTGGCGCAATTGACAGATCTTCAACCTTACTCCTTTTC
CGAGCAGCCAGATTAATGCCCGAGTCAACCAGCACCGCCACCGAGGAAATCGCCCGGGTGATGGATGTAGTGGAACAGTTTTTC
CAGTCGGTTGAGTCTTTGATAATTTGTAATGGCCATGGGATCGAGTTTCGCCTGCGCGGCGCTCGATCTAAAGAACGATAAAA
ATCTCCAGCCTTACCCACGCTAACAAGTGAACAGCTGAACCTTAAGTTGCAGGAGAGAATTCAGAGAGATCTTATGATAACT
ATGAATGCCATTGAAGCTAGAAAGCTCTCGGTGAAGCAGGCAAAGGAAACCCCTGTCTCTCTAGCAGCTTTCACACAATCCATG
AATGCTAGTCGCTTGAGGTTTTTCGCCGTGGATGAGGTTTTTTTCCCTGTTTGTAGAGCAAGTTGGTGAGCCGTTTTTTTCGACAG
GAGGTTCTCTCTCAAGTCTGGATCGATACAGAGGGATCTTGCCGAACAAATTTGTTAGCGTATTGGAGTGAGCACGGTTGGTG
CGGGTATGGTGACGGGATATTTTGGACTGTCAACCCCCAGGAATATGAAGGGGTAACTGCCTCGCTTATCGAAGGCACAATAT
TGGAGAAGCGGGATAGATACCACCTGATCGCTCGCGGCGCATTTGGTGACCTGTATCTCTTTGGAGAGCAAACGGGTTTTCTCA
GTAAAGATTTTGGCTCATATTTACGATACAGGGGCAGTGAATATGAGTTGACGGCGGCGGATATGGACAGGGAAGTGCAAGG
TTTCTTCTTGGCAAAGAGAGAGGCGTCTGTTGACTTTTGATGGTATGTTTCGAGCCCGCAAAGAAGAAATTGGGCATGCTAAAGC
ATGATGAAATGTATGGGTTTCGTTCCAGCCTTGGCGTTCGGCGGGTCAAGCGACCTTGCTAACCCTCGAGAAGGTTAAGGCAGTG
GAACATCTAATACTGCTTTCTCAGATTGCCACCCCTCGAACCCCTACAGTTTCTCCGACTTCTAAAAAGCAATCCGCAAAAAGGG
GCTGCCCTGCAGCCCCCTCGCTCCTTCAGCTCCGCTCCCGCACCCAGAACACGTAGCCCCGGCCACTGCCGCGCGGCATCATCA
GCACGTTACGCCTGGAATCATCAGCGCCAGGTAGGTGATGCCGCCAAAGCCCAGGCTCTGCCAGCGCTTCTGGCGCAGCCAG
GCGAGCATGTCTGCCAGCTCATCTTGTGTTGTCCGCCGGGTAGTCGATGTACTGGATGGCCATCATCCACACGCCGAAGAT
CAGCCATAGCGGCGCAGCCACC

12>chr1:3514469-3516476

PP3108-intergénica

rhs like protein



779 -1 TGGCCAGCTGGTGCG 8.52 orientacion incorrecta

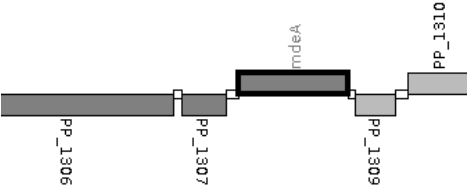
CAAGGACAACCGGATCAAGCAGTGGCGGGACCAGGAGTACCGCTACGATCCGTGGGGCAACCTGATCGAGAAGCGCTCTGGGC
ACAGCAAGCTGCAGCACTTCAGCTACGACTGCGAGAACCAGGCTGGTGCGGGCGGAGACGTTGGTCAATGGCAAGCTGGAAAGC
CAAGGCGAGTATCGTTACGACAGCTTGGGGAGGCGAATAGCCAAGCAGGCTGAAATCAATGGCGAGGTGAGCAGAAGCGCTT
CCTCTGGCAAGGGCTAAGGATGCTGCGGGAGGAAACGCCAGGGCAGAGCATCTTGTACCTGTACGAGCCGGGTAGCTATGCGC
CATTGGCGCGGGTTGATCAGGTTGAAGGAGAAGGGCAGAAGGTCATTACTTCCATACCGATCAGATTGGGACGCCGCTTGAG
CTGACGGATAGCGAGGGTGAGATTGTTTGGCAGGCGACGTATCGCTCTTGGGGCACGATAGAAACTTTGTGATCAAAAGAGGT
CGATCAGAATCTGCGCTTCCAAGGTCAGTACTTTGATGCTGAAACAGGGCTGCACCTATAATACCTTCCGATATTATTATTCTG
AAGTGGGACGTTATGTCACTCAGGACCCCTATTGGTTTAGATGGCGGGCTAAATCTTTATCGCTATGGTCAGAATCCGGCAGGG
TGGATCGACCCGTGGGGATGGGAGTGTTGGAGTACTGCTCGAAAAAATCTATTGGAAAGCTGAGGCCAAAGCACCTACTCGTGC
CTACTCACCCACAAAACCTTGTGCGTATGGCTGAGGGGAAAGCGCCAAAATGACAGTTGAGGTGATTTGCGCGAAGACCGATA
AAATATCAATTAGAGAGTATGCATTAGAATTCATCATAATGATATTCCTCAGCGAGTGGGTGGGGCGGGTGTACATGATTCTG
TCAAATTTGCTCGCGCTTACTCCGTGGGAGCATGAGGCTGTGACCAAGTTTAGGCATGTAGGCTCTGACTTGATTAGAGTAAT
TAAAGGAGTTGATGTATGGTAACTCAATGGCGGTTTCAATGGCGGAGAATCTAGTTGGGTGCTCTGCTTATAGGGAGTTACTTGC
GGAGCTAGTCGACGCTACAGGTATTGAGGTTGAGTCGGAATATGCAGAAGTATTCGCTCGTCTCGACTCTGCTAAGATTGTAA
AGGCAAAAGGTTGATATTGATGACTTGATGTCCATATTGACAAAACAAATGGATCTTATAAAGCAGTATTTCTATTGTAAGTTC
CAAGCGCTTTTCAGATGAGGAGGATGAGGAAGAGTATCCGCTTGGCGCAGAGCCCTTCTGGCGATGAAAGAAGTAAACTCTTTC
GGTTGGGAAATATTACAAGGTTTTTTGTTGACCAATCTTATTAGTTTGCATTGGCGATGTCTGGTCTGTAATGCCTGCTGG
AATATATTAATTTGTGTAGAATCCCAAATGCAAAAAAATATACTGATCAAATAATCAAGTTGACAGGTCTTGGGTAGCGCTGG
CTGTCTGCTATGGTTGGTTTTTGTGTTGTAATTTGCTAATATTGTATTTTGCAGGTGTCCGTAGTTCTTTAATAACATGTTAGGTAG
TATTTCCGGGGCGAAAGCCCCGATGTCCCTATAAATCGTCAATTCAGAAATTGCGTCTTTTCATAGGAAGGGCGCCACCTCTTTG
GCAGCAATACCACAGGTCTGCACCGAAGGTGGCCACTACCGCTGGGAAACCCCTCAGCGGCAAACCGCGCGTGGTTCGAGCACTG

GACCAGCGACGGCGAGCACTACCACTTCCGCTGATAGC**CGCACCAGCTGGGCCA**CCGACGTACTTGGCCGCGAGCTGGAAGTG
CAGTACAACGCCGACCACCGCTGGTCGCCAGCCGCGATTATGGCGGCGAGCGTTACGCCATCGAGCTGGACGAACACGGCAA
TATGGTTGGCCTGACCTTGGCCGACGGTAAACCGCCTGCAATTCAAGTACGACGAATTCTCCCGCTTGCTCGAAGAGACCGATC
CGCTGGGCCGCAAGA

13>chr1:1493886-1497671

PP1306-PP1307-PP1308-PP1309-PP1310

pyocin S-type Killer domain-containing protein- AsnC family transcriptional regulator- mdeA (methionine gamma-lyase)- hypothetical protein- hypothetical protein



12	1	CGGCGCAACCGTTGCT	11.25 todas en codificantes
1784	-1	TGGTACACCGGTGGCA	12.57
2473	-1	AGGCAAGCGTCTTGAT	10.02
2755	-1	TGGAATGCGTCATGCT	12.89

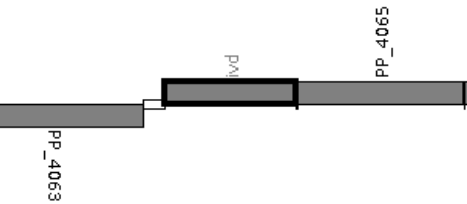
GTGGGCCAGCC**CGGCGCAACCGTTGCT**CATCTACAAGGTGCAAAAGCCCTTCAAGTTGTGGTTTCGACAGGGGGCTGTTGATG
CGCGGGTTTTGATCTTGATAGGGGGGAATTTGCGACTGCTTGGCCTGCACCAAGGCGGCAGCAGTTGCCAGGTAGGTACTGAA
GGTTTGGACAAGCGTGAGCGTGTCTGTCATGACGGTTTTGACCCAGCTCATGCTGAAGGACGTTGGGTAAACAATCGAAATGTA
TTTGTGCTGCTCTGTGTGGATCTGCGCTGTTCTACGCGCAATCACCTGCAACAAATCCAGCGGTTGCTGGCTGAGTTCTTCCTGA
TCTACCTGGCTTGGCAGTGCTCGAAGTTCGTGAGCCAATGCTTGGTGCTTCTGAGCTTCCAGGTGTAAACGGTACGTACCCTC
CCAAGACTTCTGCAGCCTTGTGGCCCATTCACGCTTAATTCCTGGCCTGTTGTTGCTGCGAAGAAACCCGGGTCTAGAAACC
GGCTCATCATTGAGTCGCCCCGCTTGTAGAAATGCGGGTACGCCAAAGTAGTTGTTGGCGTCGGGTAAAATCTGCAGATAACCA
TCACGAATCTGGCTGATGCGCGACGACAGGATTTGTTGCT**TGTTAC**GAATGGTGATGCCGCGCCGTTTGTACTGCTCGCCTC
GGCTTTTGATCTGGGCTTTTAGTGCAATTTATAGTTTCAGGAAGCTGGTTTGTTCATGAGCATACTTATCTGAATAGTCCTTTT
CGATGATTTGAAATTCTTCTGTGACGACCCCTACGCGTGGAATAAACCCGAGCAATATCATTTTTGGTTGGGCTGGTGCCGCGT
GGATAACCATCGCTTAGCCCCCAGCCACCTGAGCCCGGCCACCGCCACCGATAAAACTCAGTTCAATACCTGTAGGTGCTTG
CGCACTGATGTATAGCGCTCATCGAGATAATACGTATTTGCCCGTGCCATGTAGGTTCTCCTGATCACTACATGGGCTAGGT
TTACGTATATCGAATTTGCGGTATGTGAGCTGCAGCCTGTCAATCAGTAGGAAGCTTCGTGTTGCTCGGAAAGATCCGTCTCA
GATATGTTTCTCCGACACCGGTATCACCCGCTTTTCCCTTACCGCTTTGTACGAAAACTCGAATAGATCTCCTTACCCCCG
GCAACCGCTGCAGCACTTCCCGGGTAAATTCGCCAAACGACTCCAGGTCCCGTGCCAGGATCTCCAGCAGAAAGTCATAGCGG
CCGGAGATGTTGTGGCAGGCGACGATCTCGGGGATTTCCATCAGGCGCTGTTCAAACGCCAGCGCCATGTCCTTGGTGTCGA
GTCCATCATGATGCTGACGAACGCGGTACACCAAACCCAGCGACTTGGGCGAGAGGATGGCCTGGTAGCCGGTGATGTAGC
CGTTTTCTCCAATAAAGTTGACCCGTCGCCAGCAGGGCGAGGTAGTCAGTGCCACCTGGTCGGCGAGTTCGGCAACGGTGAGA
CGGGCATTGTCTTGCAAGGCGGCGAGCAGGGCGCGGTGCGGTGCGGTGAGGCTTGAAGGCATTTTTTGCCCTCCTGGTCCGTT
GATTATTGTTTTTTGTTCCAGCAAGCACGTGTATGCGTAGGCTATTTTGAAAAAATCGGGCAGCTCGGTGGCATAAGCTTATA
GCAAACCACAAGAGGCTGTTGCCATGCGCGACTCCACACACAACACCGGTTTTTCCACGCGGGCCATTATCATGGCTATGAC
CCGCTTTCCCATGGTGGCGCCCTGC**TGCCACCGGTGTACCA**GACGGCTACCTATGCCTTCCCCACTGTGAGTACGGTGCTGC
CTGCTTCGCCGGGGAGGAGCCTGGGCATTTCTACAGCCGCAATTTCAAACCCACGCTGGCCTTGTGAGAGCAGCGCATGGCTT
CGCTGGAGGGCGGTGAAGCGGGTGTGGCTTGGCATCGGGGATGGGCGCAATTACCTCAACCTCTGGACCCTGCTCAGGCCT
GGGGATGAGCTGATTGTGCGGCGCACCTGTATGGCTGTACCTTCGCTTTTCTGCACCACGGTATTGGTGAGTTCGGGGTGAA
AGTTTCGCCATGTGATCTCAACGATGCCAAGGCCCTGAAAGCGCGCATCAGCAGCAAAACACGGATGATCTACTTCGAAACAC
CGGCCAACCCCAACATGCAACTTGTGGATATCGCGCGGTTGTGGAGGCCGTGCGGGGGCATGATGTGCATGTGGTGGTCGAT
AACACCTACTGTACGCCGTACCTGCAGCGGCCACTGGAGCTGGGGGCGGACCTGGTGGTGCCTCGGCAACCAAGTACCTCAG
TGGGCATGGTGATATCACTGCCGGTTGGTGGTGGGGCGCAAGGTGTTGGTCGATCGCATTCGCTTGAAGGGCTGAAGGATA
TGACCGGGGCGAGTGCTGTGCCCCATGACGCGGCGCTGCTGATGCGCGGG**ATCAAGACGCTTGCC**TGCGCATGGACCGGCAT
TGTGCCAATGCCAGCAGGTGGCGGAGTTTCTCGTCCGGCAGCCGAGGTGGAATTGATTATTACCCGGGGCTACCGTCTTT
TGCCAGTACGCGTTGGCCAGCGACAGATGCGTTTGCCTGGCGGATGATTGCCTTTGAGCTCAAGGGTGGCATTGAGGCGG
GGCGGCGCTTCATGAATGCACTGCACTCTTTTGCCTGGCGGCTGAGCCTGGGGGATGCAGAATCGCTGGCGCAGCATCCGGCG
AGCATGACGCATTCCAGCTATACGCCGAGGAGCGGGCGCATCACGGATATCGGAGGGGTGGTGCGTCTGTGCGTGGGGCT
GGAGGATGTGGAGGACCTGCTGGCAGATGTGCAACAGGCATTGCAGGCCTGCTGTTAGGTTGCCCGCGAAGAGGCCATTGAAT
CCAGCCCAAAAAAGGCCCTTTGCGAGGCCCTTTGTACATTCAGATCAACGCTTGAGCCCGTAGCTTTCTGTCGAGCATGCC
GGCGAGTTAGGCGCTTTCCGTGCATAGTCGCGCGGCACCTCGGCGGTGCTTTTAGGTGGGGTCAGGCGGTACGCGGGCCTTG
CGGTGCATCGGAGTGCAGCGCAGCCAGCGGCTTGGCGGGTGACGTATCGAGGGCCAGGCTGTTGGCGCCTTACGCCAGGT
GATCCTGTACGTCTGATAGCTCTGGGTGAGTTTCTTGACCAGCATGGCGGTGCTGTTGAAATGGGTGACCACTTCGTTCTGG
TAGCTGTGCAAGCGCTTCTGGATGTATCCAGTTGACGCTGGGTGTTGCTCGGGGCCGATTTGGGCAGCAGGCGGGCAACAAT
GAAACCGACTGCCACACCGATGACCAGGGCCAGGGTTGGCAACAACCAACAAGGAGCGAGAGTTCCACGAGTCTTCTCTTA
TAAACGGCTTTGCTTTACGTTAACGGCTCAGACCTGCGCTGTATACCGCGAGCGATCGCAAATCAGAACAGAATTTACACCT
AGACGAATCGACCTTCCCGAGATCACGGAGTAGTGCC**TTGCTTGTCCGCGAAACCCCTTGTTCATCGATGGCCCCAGCGGC**
CAGCTGGAAGCCTTGTACCTGGACGTGGCCAATGCCCGTGGCGCGGTGCTGATCTGCCACCCCAACCCGGTCCAGGGCGGCAC

CATGCTCAACAAGGTGGTCTCGACCCTGCAGCGCACCGCACGTGATGCCGGTTATGTGACCCTGCGTTTCAACTACCGTGGCG
TCGGCCAGAGCGCCGGCAGCCACGACATGGGCGCTGGCGAAGTGGCCGAT

14>chr1:4587434-4589878

PP4063-PP4064-PP4065

AMP binding protein- *ivd* (acyl-CoA dehydrogenase)- propionyl-CoA carboxylase



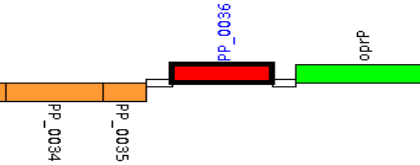
GCTTCAGCGCAGACCAGCCAGCGGCAGCCGGACTGGCGCAACACGTTATTCGCCCCACACGGTAGGCCGGGTTGATGTT
GACCAGAATGGCACCAGCCTTGGCACTGGCCAGCTGCAAGATGCACCCTGGGCGCAGTTGGGCGACCAGATGCCAACACGGT
CGCCGGTGTTCACGCCAGTGCATCAGGGCGCGGGCGTATATTTTCGACCTGTTTCGGCCAACTGCCGCCAGCTGTAACGCAGG
CCCTGGTGGCGGGACACCAGGGCTCGCTGTCGCAACAGCGGGCCACGGTGGCATCGAAGGCCCTGGCCGATGGTCTGGGTCTAG
CAAGGGTTCGTTCTGGCGACCGCGGGTATAGCTCGGTTGACTCATGGGTGTCCCTTCTTGTGGTTGTTTTGGGCACGGCTGAA
GCAAGCGGGAATACTCTGGCGCAGATTTACGTTTACGTAAGGTGACGAGTGGATTGACAGTGACCCCTCATGCAGGTTTACGT
TAACGTAAAGGTGATGAACGACACCCACTTGAGGCGCCACGCCGCCCTCTGTGGGAGCGGGCTTGCCCGCAATGCGACCAAT
CAGGTAATGACGGTGACCTGCTGACGTATTCGCGGGCATGCCCGCTCCACAGGGGGCGGGGCCGGATCCCAAGCTATGGTG
TAACCAATTTCAAGAACAAGAAGGTGCCCCAGCATGCATTACCCCTCCCTGAACCTTCGCCCTGGGCGAGACCATCGACATGC
TCCGCGACCAAGGTGCGCACCTTCGTCGCCGCTGAACGGCCCCAAGGGCCGCGCAGATCGACCACGACAACCTGTTCCCGGCC
GACATGTGGCGCAAGTTTCGGTGACATGGGCTGCTGGGCATCACCCTACCGGAAGAGTACGGCGGCGCTGGCCTGGGCTACCT
GGCCCATGTGGTGTGATGGAAGAGATCAGCCGTGGCTCCGCCTCGGTGGCGCTGTCTACGGCGCCCATTCGAACCTGTGCG
TCAACAGATCAACCGCAACGGCACCCACGAGCAGAAGCTCAAGTACCTGCCAAGCTGATCAGCGCGAGCACATCGGCGCC
TTGGCCATGAGCGAGCCCAATGCCGGTTCCGACGTGGTGTGATGAAGCTGCGCGCAGAAAAACGCGGCGATCACTACGTGCT
CAACGGCAGCAAGACCTGGATCACCAACGGTCCCGACGCCAACACCTACGTGATTTACGCCAAGACCGACCTGGACAAGGGTG
CGCACGGCATCACCGCGTTTCATCGTCGAGCGCGACTGGAAAGGCTTCAGCCGCAGCAACAAGTTCGACAAGCTGGGCATGCGC
GGGTCCAACACCTGCGAGTTGTTCTTCGATGGCGTGGAAGTGCCGGCAGAGAACATTTCTGGGCCAGCTCAACGGCGGCGTGCG
CGTCCTTATGAGCGCCTGGACTACGAACGTGTGGTGTGTCCGGCGGCCCGACCGGCATCATGCAAAGCTGCATGGACCTGG
TGGTGCCGTATATCCACGACCGCAAGCAATTCGGCCAGAGCATCGGCGAGTTCCAGCTGATCCAGGGCAAGATTGCCGACATG
TACACCCAGCTCAATGCCAGCCGCGCCTACCTGTATGCCGTGGCTCAGGCGTGCAGCCGTGGCGAAACCACCCGCAAGGACGC
TGCCGGCGTGATCTGTACACCGCCGAGCGTGCCACGCAATGGCCCTGGAGGCGATCCAGATTCTTGGCGGCAACGGCTATA
TCAACGAATTCCCGGCTGGCCGCCCTGTTGCGCGACGCCAAGCTGTACGAAATCGGTGCCGGCACCAGTGAAATCCGCCGGATG
CTGATCGGCCCGCAACTGTTCAACGAAACCCGCTGAACATAAGGGACGGGCGCACATGGCTACCTTGACACCCAGATCAACC
CGCGTTCCGGCAGAAATTTGCCGTCAACAGCGCGGCCATGCTCGAACAGGTCCAGGCCCTGCGCGGCCCTGCTCGCCCAGGTTGCC
CAGGGCGGCGGGCCCAAGGCCAGGAACGGCATACTTCGCGTGGCAAACCTGCTGCCGCGCGAGCGTATCGACCGCCTGCTGGA
CCCGGGCTCGCCGTTCTTCGAGATCGGCCAGCTGGCCGCCCATGAGGTGTACGGCGAAGACGTGCCAGCGGCGGGCGTGATTG
CCGGCATCGGCCGCGTGGAAGGCGTGGAATGCATGATCGTGGCCAACGACGCCACGGTAAAAGGCGGTTCTGTAACCCGCTG
ACGGTGAAGAAGCACCTGCGTGACAAACCATCGCCCTGCAGAACCGCTGCCGTGCATCTATCTGGTGGACTCCGGCGGCGC
CAACTTGCCCCGCCAGGACGAAGTGTTCGCCGACCGGAGCATTTTCGGGCGCATTTTCTTCAACAGGCCAACATGAGCGCGC
AAGGCATCCCGCAGATCGCCGTGGTGATGGGCTCGTG

15>chr1:38166-41068

PP0034-PP0035-PP0036-PP0037

ribonuclease III- GtrA family protein- LysR transcriptional regulator- phosphate-selective porin O and P

Ensayado por Juan. No está regulada por CbrB
Genes PP0034-0037. Está descrito en la página de Pseudomonas que justo en la
intergénica entre PP0035 y PP0036 hay una zona de unión de ColR (un regulador de un
TCS) que además regula otros genes del chipseq. Su secuencia de unión es
ACGNNTTTTAC → reverse = GTNAAAAANNCGT



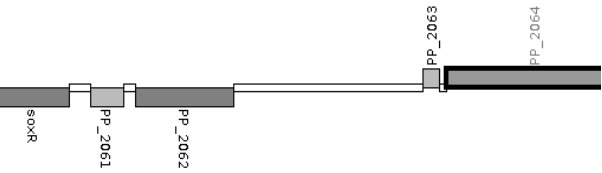
221	-1	CGGCAAGAGGCTGCA	8.85
1068	1	TGGCATTGAGATAGAT	8.09 Podría ser. Orientación correcta y tiene una caja a 132 bp de
s54			
1408	1	TGGCAAGTCCGGTGAA	9.31

GGCGCTGCATGACCCAGTAGTAAGCCCCGGGCACTCATGCGCTTGAACCACGAATCACCATTCTCAGGTTGCGCTGCATGTTTCC
ACCACGTCGTAGCCGCGTTGCGAGTATGCCACCATGGCCGCGATGAGCTCTGGTGGATCCTGCAGGTCGACATCAATGAAGAT
CAGCGCACTGCCACGGGCATGGTCTATCCCGCGCTCAGTGCAGCCTCTTTGCCCAGATTGCGACTCAGGGACAGGCAACGTA
CAGATGACCCATCCTGATAGTGGCGAAGAATGTCGGCCGTCCGGTCATTACTGCCGTCGTCGACATAGAGGATTTTCGAGGAG
ACGGGTAAGCGCTTACCACGCGGGTGATTGCGTGGTGGAACTCGGGGATGGTTTCTCTCTCTGGAAGCAAGGGACCACGAT
GGTTAAACAAGGGATCAGGGCGCTCGGGAAAGCGATGTAATGTCTGCATGATTGAATGTCCAAAAACGATGTGCAATGAATCCA
AGTGCAGTGAGGCTTAAGGTCACCTACGACTTGGGAGATGAGCGGTGACAGATTGCGACTTGATGAGGAACACATACCCACGCC
ATTGCCGAAGTTTGTGGTTAACGCGACCACTGCAAACTGACAGGCTGAACTTACGAGAGCCATCTGCCACAAAACAGAGCG
CCCTATTTCCAATGAAGCTCGCGATTGCGCCAACCATGCCGCCACAGATACTGGCCAGTAACGGAGTAACGAATTCTGTCTGTA
ACCAGCAATAGGAACACCCGCATAATGGACTCCCCTTGCTATGAAGCCGATCCCCAGATAACGAATCAGTAAGGTAGTAAGAGG
TGGGGTTTGATTTCATGCCCAAAGCCTATGGAGGCAAAGGTGAAAAAATAGTGAACATAATGTAAATGCGTAATTAGCCGA
ATCTATATATGTTAAAGTAAGTGGCGCAGTACGCTAGCAGCTACAATATCAGAGGGATTGCCTGAAAATTACGCTTTTCG
AAATAAAAGCCTTCCGATAACGCATGCATGACCCGTGGATTACAATGTTGACAAGATAAGGAAACACCCGGGTGGCATTGAGAT
AGATTCCCCGAATTAAGGGGGACCTAATGGTTACACAAAATGAAACATATACAAGCACCGTTGTTCTTACAGCCCTGACATA
TTGGATGATTTGCCAATTGATGATCAGCTGGCCGTAGAGTTTTTTCGCAACAGCACGTTGTGCCAGTTTCAAACAGGCTGCCCG
AGGGCTCAATGTGCCAGTGGTAGGCCCTGCGGAAACGCTTGGAGAACTGGAAGAGCACATTTGGTGTCTCCCGTGTGTTGTCTACA
AACACAACAAGCTTGCCCTGACCCGCACAGGCGAGAGGGTCAGCCATTACCTGTGCCAGCTCTTCGGCCCGAGACGGCCTTGGC
AAGTCCCGTGAAAGGAAGTCCCAGGCTTACCATCGCGATCACAGAGCCAGTGCTGAACGACATCGTAAACCGCGATCTAGT
CGCTACGTGCGTGATCATGCCGAAATGCAGCTGGAAATCCATTGAGAATGCACAACGCAGATGCTTTCTGAGTGTGAAGTCG
ATGTGGGTATCGCTTTGGTGAGCCAGATGATAAAGGCGCGCTTGATCGCCATCCTACGTATAGGTTGAACGGCTTGGCCGG
ATTGGGACAGCCCTGTTTCAATTTCCAGCCGCTATTCAAGAAGCAAGTACCCTTCCAGTGGAGAGCTTGGATTGTCACAATTCAT
GCTCGTTGTCTCCCTTGGGATGAAGAGATCTTGGCGGGCTCACGAAAGTGGGATCGATAATGGCTGAGCATCAGGGCGGTACCA
CTCGGGTCAAGAGCTACAACCTATCACGAGGCCCTTGTCTGTTGGCGGTGCGTGTATTGGAGTGCTGCCCGACTACAGCCGAAAA
CTGGAGAGAAATATCTTACCCGTGCCGGGTTTCTTGGACGACCTGGAGGAGAAAGATGTCATCTTGTATCAAACGAAGCT
TGTCCGCAATCCGCAGGTTTTTGAAAATTGCAAGATTGATCAAGAAGAGCTTCTTTGATAAGAAGGACTGGCTTGTTCGTGTAAC
AGTTTTGTAGTTTTGAACTCCTCCGTAAACACTACAGAAACACAACGTGTCATATTCGCTTGCAACCTAGTCAGAGTGCTTA
GAACAAAGGCATCTTGTGTACAGCAGGTGACAACCGTGGCCTGCTCCCATCTGCAAGATAAATTTAGGCCGGCGCAGGGCGAAA
TATAACGTCGGTAGCTAAGCACTTAACATACGAGAGGCAAGCAATGATCCGTTCTTGAACATGCGGGAAAAGCTGTTGGCTG
CCGCAATAATAGGCACATTTTCTCGCAAGCATTTCTCCGGAACAGTAACCACTGACGGAGCTGACATCGTTCTGAAGACCAAG
GGCGGTCTTGAAGTATCGACTTCTGACAAGGAATTCAGTTTCAAACGGGCGGCCGAGTTTACGGCCGACTACGGCCGTTTTCGA
TGGTGTCTTACCAAGAATGGCGATACCGCTGACGAGGCTACTTCCGTGCGCCTACCTTGAGCTCGGTGGCGTGCTGTACC
GCGACTGGAAGTATCAGCTCAACTACGACCTTTCCCGCAACACGGGCAACGACTCCGACGGCTACTTCGACGAAGCCAGCCTG
ACCTACACGGGTTTCAAGCCGGTGCAACTGCGCTTTGGCCGTTTCTACACCGACTTCGGTCTTGAGAAAGCCACCAGTTTCGAA
GTGGACCACCGCATGGAGCGAACCCTCTCGTACGACCTGGCGGACTGGATCAACGACAACGCCGGCATGGGTGTTCAAGCCA
CCAGCACCATCGCTGACATGGCTTATGTTTCCGGTAGCGTTTTTCAGCGAAACCAATAACAACCTCGGATGGCGACAGCACC

16>chr1:2344079-2346899

PP2060-PP2061-PP2062-PP2063-PP2064

SoxR (transcriptional regulator) – hypothetical protein – hypothetical protein – hypothetical protein- RND family efflux transporter MFP subunit



902	1	AGGCATAGGCGTTGAT	12.04
2320	1	TGGCAGCGCTCTTGAT	16.18 OJO!!

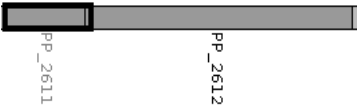
TGAAGGCTTGTGTTGATTTCTCAAGCGGAATTCCCCTGCGCTGGGCTACCTTGATGATCGCCAGGGTACGCAGCACCAGCGAG
GGATAGCGGCGCTGGTTGCCAGCCGTGCGGACGCTGGCGATCAGCCCCCTGGTTTCGTAGAAGTGCAGCGCAGACACCGCCAC
GCCGCTGCGCTTGGCCACTTCACCCACTGTGAGCATCCGTGTGTTGTCCGCTGCCATATATGTTTCGACCTAAAGTTAAGTTGA
GCTTTTATAAGCCGGCCCGGTGCGCGGTGCAACGGTTTTTCCGGGTGATTGGGGTATGGCATGACGGCATTTCGCTTTGCCCA
TCATTTTCCAGTTGTTGGCAGCTTACCCAAAGCCACGACGACGCTTCTCACTTTCATAGCCCCAACCTTCCAGGTAGGCCTTT
ACGAGCGCTGTGCGCCAGGGCTCAGGCTGATAGTGTCCGACCAGTCTGACAAATAAATACCCGCTTCTCATAGGCGATATA
ACCCGACGCGCTAAGCTTATTGCTGGCAATTGAAATTCCACATTTTACGCGCCGCTGGCGTGAGTATTCAAGAGGGCGTCAGTAG
AGGCGCCGAAGACGACCAGGGTCGTTTCTGTCGCTTTCATTTATGAGTGTGTATTTGTAAATCAGTGATGGGCTGATTTTTTTG
CGCTATTGTTGTCTGTTGATAATATTGATGTCTACGATGCCCTTGCTTATAAAGCTTTTGGCATCCTTGAGTTTCGGTTTTAAGG
TGTTTGGCTTGGTTGTTAGAAAAGTAGGTGTCCCCTATGGGAGGGTTTGAATCGTTTGCTATAAGTCTTGCTATCTTGATGGC
GGTCTGAACAAATGATTGATTGCGTTTTTCCGCTAGGGTCTTGTGCGTTGACTGGGTCGTTACGGCAGTAGGCATAGGCGGT
TGATGCCGCTTTGAGGAAAGGGCTCTGGTGGTCTGGGCTGATGAATCGCATCAAGCATGGGATGAATATTCGGTACCCGTTT
CCGAGTGCGTAACCGTTCAGCGCAGAAATGTAATAATCACCATTGAACCCCACTGCTCCGGTCCGCTCCGCGTTGGCGTTTCG
AAACCCATAGGGTGTGATTTGCTGGCTGGCCTGTTGTTGGGGCCGTGGATGTTCTGTCGGCGCCATGTTGGTCACGGGCCT
GGCTTTCAAACGGGGTGCAATGGTCCGATCGTGTTTTTTACGGGGTGTCGAAGTTTTATGCGTTGACATATATCTGACTCCG

TCAGATCTGGCACTTGGCATCAGTGATTACCCATTAGCCATTTCGTGCTGTTTTTCGACGTCTTTTTCGCTGCCAGGCCCTGCAGGCT
TCAAAGGAAGGTGAGTTTCTGTAGTCCTGCCCGATCTTTTCACTGCCAGGGATCAAGGCGGACATTCGGATGAAGTCCCCAAGG
CGCAAGCGAATTTTTAGTGCGCGAAGGCGCAACGTACGCACAAGACAGATTGGTGAGACTTAATCGTTTCGCGGGATACGCTG
CCTCCGATATTAGTTTGTGTCGGGCGACGAATACGTTTAGAGACGTGCTGCATAGCCCTTTAGAAGGCGTATTCTCCCTCAAGC
TCGTTTACTGTATACCCGAGCGACTCAAGATGGGCTTTTCGCGGGTTTTCAACTGCTCAACCGAAGGTTTATAGTGTCCAGAATGG
GTGTCTAACGTATAACCGTTGCCGTCTTTTTATGATGCCCCCTGCCTGACAACCTTCACTCTTGGTTCCGGTTATCCCTTGACC
AAGATGGGCGATGCTTGGATGGCTGGGTTTCATCTGCGCTGTAACCTGCCTATGAAGAAATTTCTATCGCGTGTAAGACAAATT
TATGTTTGAATTGAGAATCGTTAAGTCTGAATAAGCTGGCGGGATTTTTGACCAGGGTGATGTGGGTTGTTTGATTTTTTATT
GATTGGATTGCGAGCTTTACGTCCCTCACTCAACTCATCGGCATACCAGTTGCCAAGTGCTTTCCAGTGATTGGTATTTTTCTGT
CCTCGATGAAAGATTTTTCTTAAATTTGACCGCTGCCAAGGCTACAGTGCCCTGCCGTCTTGAATCGGGATTTTCCGCTAGGGT
CGGTTGCGTTGATTGGGTCGTTTACGGCAGTAGGCATAGCAATTTAGACCGCCACGATCGAAAGGGCTCAGTGTGTCTGCGCTT
ATGAATCGCATCAAACGGGGGCTCAAACGGGGGCTATAGACTCGATGTCCATTACCGAGGGCGTAGCATTCCCTTAGGGTAAA
TAGAGGCTCGCCATTGTAGCCTAAGATTCCGATCGGCTGCTTTTTCGCGCTTTTCGATAGCCATAGGGCATGTAGTTGCTTGGCA
CGCGTCTTGATGTATGCGTGGAAGTGCCTGTAGACATGGTCTTGAAGAACCCAAGCTGAAGGAGGTATGAGTGTGCCTCA
CATGCCAAAGGTTTCGATACTGATAAAATTTGTCAGGTGATTCCAGTTCAATGATGTCGTGATTGCCTCGCACTACCACTTCAAC
GTCTATCAGCAGCCAGGGGTGCCATCAACATTCGCGTGCCATGCCGTGTTGACCTCAAGTAAAGTTGAGCTTTTATAGTCCTG
CCCGATCTTCCCTGCAACCGCTTTCCCTGTGATCGGAGCTGTGCATGAACAAACGGACGTTACTGGCCTGGGCTGGCGCTGTT
GCCGGTGCGCTGGCCGCTGCCTATGCGCTGGTGGGAAGCGGCTCGGCGCCGCCCGCTGCGGCGGTGTGGCCGGCGACCAAGGT
GGCGCTGGCCACGGCCGAGCAGGTGCAACTGGCGCGGCAGCGCTTTGCTTCGGGGGAGTTGGAGGCGGTCAACCAGGTGCA

17>chr1:2984664-2986696

PP2611-PP2612

hypothetical protein- hypothetical protein



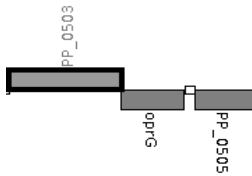
78	1	AGGCAGATGGCGTGCA	7.93	todos dentro de codificantes
686	1	TGGCTTGAATCCTGAA	7.30	
797	1	TGGCATAGTAATTAAT	9.14	
1183	1	TGGCGAAAGGGTGCCA	8.00	
1635	-1	AGGCATGGCCTTTGGT	7.86	
2012	1	TGGCTGCTCGGTGAT	7.94	

AGTTCTTTTTACCCATTCACCGGGCTCGCCGGTTTCGCCAAGGTGCATAGTGGCGCCAGGCTTCTGCCGGGGTCAAGGCAG
ATGGCGTGCA GTGGCTTGTGCCACCAGTTGGGTTACCGGGCGGAGGGAGTTTGTCCGGGCCGTGATCCATGAAGTGGCGGAG
GTATTCCCATAACCTCGGCGACATGCTTGACGCCGGGTTTCGGTGGGTTTCGTTACTGTGCGACCCAGAGGCAGTCTTTTTTGGTGCA
GGCTGCCGTCTTCGCGGCGGGGGGCGAAGGCGAGGGCATAGCTGGTGGTGAAGGAGGAGCCGCCGAATTCTGTGCGACTGAAA
AGACCGCCTGCGACTTGGCTCCAGTCAAATATTATGAGTTTTTTGAATCGCTTATAGTAGATTTTTCTTTGTGTGTGCGATTTAA
ATATATGTTTCGATAAGTTTTTTATGAAAAGTATTCTGTAGGCTAAGAAATGGGGTAAAAATAAAGGGGAGTGAGATCAGGATGG
CAACGAAAAATGTCGCCGCCGTTGATTGAGTAGTCTATATTTTCAATTAATGAGATTGTAACA TGATAATACCCAGGTAAATAGA
AACATGGCAGTGATAGTTTTTCCCATGAATACAGAGTCCGACACCCAAGGTTGCGCAGGCATAAGTGTGAACCTGGTTGTTTG
AATAAGTTGTCCGGAATTTT TGGCTTGAATCCTGAA GTGTGGGCTTGTTTAAAAAGCCAGATAGTCGCCATAGGTTTAGCGT
TCCAGATGAATAGTGGTAGTAGAAGGAGTGTGTCATCCAGTCCCTTGGT TGGCATAGTAATTAAT CGTTAGCGTGGCAGACCT
GATTTGTCTAGCATCAGTTTTGTAATGAAGTAATAAACCTGCTTGGGTGATATGGCAGTCAGGGTTTATTTGGAGTGGGGTTG
TCTGTCTGTGAGATTCTGGCTCACTAACTCCCTGACCATTGCTTTGACCTACTACGAATTCGGTAAAAGTATAGTTTAGC
TCGAGTGTGTGCGTTTGTGTTAGTGACCTGAGTATGGATAATTGTTGCCAGTCAGGTGTTGGCCATTTGTTATTTATATATCCAA
ATGTGTGCTTAGGGCGCCTAAGCCGAGCTGCTCAGAGTACGGTGCCAAACAATGCTTTTCGGTGAGAAAAATTCAATCTGCCATG
ACTTGATTTCTTCGTGGATG TGGCGAAAGGGTGGCA ATTTTTTATCAAAGTCTAACTTTATATTATCCCGTATTTCTCCATCG
TTTTCCCTTGTCCCCAAGATGCTTCTGCTGGCCCAATAATTCTAAAGGGCTGTGAAGCCGGGAGTGAGCTTTTGAGTAGAGGAA
TAGACCTCCACCGATCAAAGTTGCTCCGATCAAGGCGATTCCAGCTGCTGTCCAGCCTGCAAAGGGAATGAGGACTGTGCTGC
CTGCGATGGCAAGGCTTCCCTTCTAGAACAAGAATCGAACCTAAAGCAGTAGTTCGCGCTGGCAGCCGCTGTATATAAGCCTGAA
ATAAGATTGCCGTTCTGCCATTGACGTATTGCCCTTAAAAATATCTGAGGAAAACCCCATTTATATCGCCGGGTAGCCTGATGC
CCGCGCGAAAAGATTACTCGTCAGAAAAGTTGATGATGCCGTT ACCAAAGGCCATGCC TGGCGCCGTTGAGATCCACTTCAACA
TCATGGCCTTTTGCCTCGCCCGCACGCTGACCAATGTCGCCGCCGCTGCACCAATCACCCCGAAAACAGATGAAGCGAACCC
AGGGTGTATTCCGGTGCATCGCTCTTTTGCAGGCTGTTGTAGGCCGTCTTGAGCGATAAGATGTTGAACCACAGCATCCCCGC
GTTTAAACCACCACCACCGCCGAGGTGAGTAACCCAAAGGAAGTTGGGTTTCGCACGCGCAGTGGTGGTCAGCTCGATGGACA
CTGTGCGGCTACCCGAGATGCGCAACGCTTTCATCTCTTCAACCTGCGCCATGCCGCTCTTCAAATACCGCTGCACCTCCTGG
CTAAAGGGATTTTCCGTAA TGGCCTGCTCGGTGAT TCGAT

18>chr1:592844-594636

PP0503-PP0504-PP0505

major facilitator family transporter - oprG (OmpW family protein)- lipoprotein



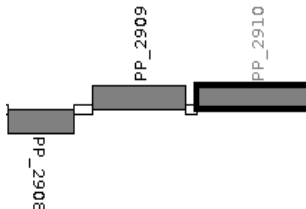
121 -1 TGGCATGACCATGGCA 13.82

GGCGCTGATCGTGGCCAGTTTCACTTGTATCGGCACGACCGGTTGCTGCGCCAGCGCGGTGTGTTCCGTGTGTTGATCTTCG
 CCGCATTCAGCGTGCTGTGGA~~GTGCCATGGTCATGCC~~ACTCAGCGCTGCGCCGCTGACACTGAGCCATACCGAGATCGGCCTG
 TTTGGCCTGGCAGGTGTGGCGGGCACGCTGGCGGCTTCGCATGCTGGTCTGCTGGCTGACCTTGGGCGCGGTGAGTGTACGAC
 CGGAGTGTCTGTTGGCCCTGCTGACGCTATCGTGGCTGCCAACAGCGTTTCGTGCAACATTCTTTGCTGGCCTTCGTGCTGGGTG
 TGCTGATGCTGGACTTTGCCGTGCAGGCAGTGCATGTCACCAACCAGAGCCTGTTGCTGGCCGGACGTGGTGCATGGCTAGC
 CGTTTGATCGGCGCCTACATGTGTTGCTATTCGCTGGGCAGCGGTTTGGGGGCGGTGTGGCGAGCTGGGTGTTTGCACACTG
 GGGCTGGGTTGCGGTGTGTGGGCTTGGCATGGGCATCAGTGCCGCCGCACTGTGCTACTGGCTATGGCTGCAACGCGCGAGGG
 CGGCCGAGGCCGCCCTGCAATGTTCAAGTCAAGAACTTGTAGCCAAGACCGACCATGTATACCCACGGGTGACGTCGACGTCG
 ACCTTGGTCTTGCTGTAGCCAAGGGCGGTGCGGCCGTTGACGCTGGCCTTGGTGTGATGTGACGTAACAGACCGAGGCGTT
 TACCAGCAGGTTGTGCGTCAGCATGTAGTCCATGCCAGTTGGCCGGCGATACCTACCGAATCCTGCAGCTTGAGGTTGCTGA
 AGCCTTGTTCCTTGCGTGCGCTGCTCAAGTCTTCGTCAAAGAACAGGGTGTAGTTGATACCGACGCGACGCTACGGCTGGAAG
 CGCAATTTGGCTCCATTGGGTAGTACTGCAGCGACAGCGTTGGCGGCAGTTGCTTGATGTCCGCCAGCTTGCCGTCCAGCCC
 GCCGCCAGACCTTTTACGCCGACGGTGTGCTTGAACGGGTAGCTGCCAGCAGCTCCAGGCCGATGTGGTTCGGTGAGCATGT
 AGGCAAAAGGTGAGGCCCAACTGGGTATCGCTGTCCAGGGTCGCCCTTGGTGCCCGACACCTTGTGCGCTCGAACTTGAGGTG
 CCGCTGCTCTCGTTGCGGGCGGTGGTGATGGCGCCTGCGCGCAGGATCATGTCCCCCGCCTGATAGGCGTGGGCGGCAGGGGC
 GGCGAGCGCAAGGGCCACAAGCGAGGCACCCAGCAAGGACTTGTTCATGGAAGCTCCCAAAGGACGTTATTAATCGAGTAGTC
 CAATGGTACGGAGCTGGTTAAACGGAAAGTTTGACCCAGCTCAACGAAGCGTCTTCACGAATTCGAAACAGTTC~~TCATCTCAG~~
~~CTCATAAGCGTAGATTTTCTCGGCTTCCATCTGGTAGCCGGCGTCGGCCAGCTCGCTGCTGGAAGCTTTGACCTGCATCTTTC~~
~~CCTCTATCCAATAGGGCTGGTAGAGGTCTTCGACGCGCACGCCCATCTCGCTGAAAATATGCACGATCTGGTTCGGCGGTGGC~~
~~GGCGGCACGTGGATGCACGCGCCATAGTAAGGGACCAGCAGGAATTCGGTGGTGCAGGCTTCTTCGCTGACCTCCAGTGGCAC~~
~~GATGTAGCCGGGAAGTTTGACCTGTTGGCCGTCGAGGCTTTTTTACCCTGGCGCGTCGGGCGCCTGCTGGCGCGCGGGAGGTG~~
~~CGGACTCGGCAGACAGCGGCTTGCTGAGCTGTGACATGTCGTGCAGCGG~~

19>chr1:3307274-3309958

PP2908-PP2909-PP2910

DNA-binding transcriptional regulator CsiR- hypothetical protein- hydroxyglutarate oxidase



1949 1 TGGAACGCTACTGGCT 11.92

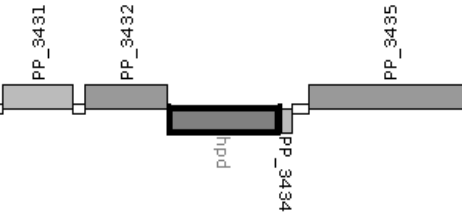
CTCCCAGGCGTCATCGCCGCGCTCGATGGCCAAGGCAATGATCATCGCTTCCAGGTTGGCGCGGGCGTCGTAGATGTCGTTCA
 TCTCATCCAGCGACATGGGCGCTACCCGGTAGCCTTTCTGGCTGATCGCGTTGACCAGGTGCTCGGCCACAGTTGCGACAGT
 GCTTCGCGCAGCGGGGCCACACCCAGGTCGTAGCGTTCCCTTGAGGGTGCTCATCAACAGCTTTTACCAGGGCTTGAACACCCC
 GCGGATGATGTCCTTCTTGAGCCTCTCATACCCGCTGAATGCTGAGTTTGTGCGGGGGCGAGCGCTTCCAAGATCCTGTTCC
 TCAAAACGTTTTGCGGATCATACCGAAACCTCTGCTGACGAAAAACAATGGACAAACACGAGTAGTGTGTTGAAAAATAAA
 AATGTAGACATTTTCACTTAGTGGCGATATTTTACCTCGCCCGCACTGATCCAGGTCATGACCGGACGGCGCCATCTACTTT
 TTTAGCCAGGACACTGCC~~ATGAACGCCTTTACGCAGATCGACGAACTTGTATGCCACTGCCCTCTCGAACCCGACGGGCTACAC~~
~~CATCGCCCCCTCGAAACAGTCGCCGCGCCTGCTGGAGCTGACCTTTGCCCGGGAACCGTTCGAAGCGTTCTGTCAGGCCGTTG~~
~~CCCAATGGCCGTTGAGGCAATGGAGTACAAGTCGTTCCCTGCGTTTTCTGCTGTAGGCGAAATCCTTGACGAGCTGTGCCAGGGC~~
~~ACGCTGCGTCCGGTGCTGCTCAACACCATCCTCGACCGCGCCACAGGCGGCATGCTGATTACCCCGATCGGCCTGGATGACGT~~
~~GAGCCAGGCCGAAGACATGGTCAAGTTTCAACACCGCCTGCGCTCACCTGATCGGCCGTTCCAACATGACGCCATGAGTGGCC~~
~~AGTTCTATGCGCGCTTCGTGGTGGTCAACAGCGACAACCTCCGACAGCTACCTGCGCCAGCCGCACCGGGTCATGGAGCTGCAC~~
~~AACGACGGCACGTTCTGTAACAGATCACCGACTACGTGCTGATGCTGAAGATCGACGAAAAGAATGGAAGGCGGCAACTC~~
~~GCTGCTGCTGCACCTGGACGACTGGGAGCAGTGCAGGCGGTTCTTCCGTACCCCTTGCCCCCGCCGCAATGCGCTGGACCG~~
~~CACCGCCGAGCAAAAAGGTTGCCGAAGATGTGTTCCATTCCGTTATTCGACACCGATGCCGAAGGCCGGCCGACCATGCGCTAC~~
~~ATTGACCACTTCGTGCAGCCGAAAACTACGAGGAAGGTATCTGGCTGAACGCCCTTGTCCGAGTCGCTGGAAGGCGAGCGGCAA~~
~~GAAGTCTCGGTACCGGTAGGCGTAGGCAGTTTCCCTGCTGATCAACAACCTGTTCTGCTGTCATGCGCCGATCGCTTACCC~~
~~CGCAGGAGGCGCTGCGCCGCAACTGATGCGCGAGCGTGGTTACGTGCGCTTCCCCAAGCCGCTGTACCAGCGCGGTTCAATAA~~
~~TGACAGGGCGCGGGCGGGCGCCGACGCGTTTTTGCACAAAATATGCCACCAGGCCCGCTGCGGGCTATGGTGAGCCT~~
~~GCCAGGCAATGCCTGCGTGTGAGGTAAGGCT~~GTGTACGATTTTCATCATCATTTGGCGGCGGGATTGTGGGCATGTCCACGGCCA~~~~
~~TGCACCTGATCAAGGTCTACCCGACGCGAAGATGCTCCTGCTGGAGAAAGAGTCTGGCCCGGCTCGCCATCAGACCGGCCAT~~
~~AACAGCGGCGTGATCCACGCCGCGGTGATTACACCCCGGCAGCCTCAAGGCGCGCTTCTGCCTGGAAGGCAACAAGGCGAC~~

CAAAGCCTTCTGCACCCAGCACGGCATTTCGCTTCGATGAGTGC GGCAAGCTGCTGGTAGCCACCAACGATCTGGAAATGCAGC
GCATGAAGGCGCTGTGGGAGCGGACGGCGGCCAATGGCC**TGGAACGCTACTGGCT**GTCGGCCGACGAGTTGCGCGAGCGTGAG
CCCAACATCGTCGGTATGGGGGGCATCTTCGTGCCGTCCAGCGGTATCGTCAATTACGCCAGGTGACGGCTGCGATGGCCGC
TGAGTTCCAGCGTGCCGGTGGCGAAATCCGCTATGGCGCAGAAAGTGGTTCGGCTGCAGGAACAGGCAAATGAAGTGATCGTG
GCACCCAGCGTGATGAAC TGACAGCCGTTTCCCTGGTGACCTGCTCGGGGCTGATGGCTGACCGCGTGGTGGGCATGCTCGGG
CTGCGTACCGAGTTCTGTGATCTGCCCCGTTCCGTGGCGAATACTACCTGCTGCCCAAGCAGCACAATCAGATCGTCAACCACCT
GATCTACCCGATTCCCCGACCCGTCGATGCCCTTCCCTGGGGGTGCACCTGACCCGCATGATCGATGGCACCCTCACCGTAGGCC
CCAACGCTGTGCTGGCGATGAAGCGCGAGGGCTACCGCAAGACCGATGTCAGCCCCAGCGACCTGTTCCAGACCCTGACCACG
CCCGGCATCCTCAAGGTGCTGGCGAAGAACTTCCGCCCCGGGCTGATCGAGATGAAGAACTCGCTGTTCAAGGGCGGGTACCT
CAAGCAGGTGCAGAACTACTGCCCCAGCATTATCAAAGCCGACCTCACGCCTTACCCGGCCGGCGTGCGTGCCAGGCGGTGT
CGCGCGACGGCAAGCTGATCGACGATT

20>chr1:3888317-3891491

PP3431-PP3432-PP3433-PP3434-PP3435

ThiJ/PfpI domain-containing protein - hypothetical protein- hpd (4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase)- hypothetical protein- diguanylate phosphodiesterase



1266 -1 TGGCACGTGCCCTGAA 12.38

TCGAGACAACCATGCTCTGCAGGACCTGGCAGCAGAAATCTACGAAAAAGGTGGCATTGTGTCGAGCAGTCTGTCACGGCGTA
GTCGGCCTGCTGAACATCAAGCTGA**GTAACA**ACTGCCTGCTGCTCAAAAACCGCAAGGTGACCGGCTTTTCCAACATAGAGGA
AAAAGTGGCCGAAGTGGACGACGTAGTGCCGTTCCCTGACGGAGAACGAACCTGGGGCGCGCGGGCGGTGAGTACAGCAAACATG
ATGAGCCGTGGAAGCCGTACGTGGTTCGACGATGACAGGCTGATCACCGGGCAGAACCCCGCTTCCACCGCCTTGCTGGCCGAG
GCAGTGCTGAAAAAGCTCAAGGGCAGTTAGCTACATCAAGGCGCTCGCTTTCCTACCGCTTCAACTGCAGCCGGAATACAGCA
GCCCCGTGAGCAAATACATAGGCTCAGGGCTCAGCTGTTACCTCGGACAGTTTCAGAGCGGAGAACTATTAGCCTATGTGCA
AAATCATGCACGCGGGGCGCAGCATGGTGGAGCTGCTGCTCATTTGCAGTGCGCTGGTGCCTGTGGTTTCCGGTTTGTCTG
GTGATGGCTTTCAGCTGGAAGCGAAACTTGCAGAAACGCCAGCATTTTCAGTTTCAGGAGGCGGTTTTTCAGCGTCGACAGTGC
ACTGGACAGAATGCACGAGACGGCCCTGCGCACCTGCCATTTGCAGGGGAATCTTGCAGATAACGTCAAAAGCGCCTTGCAGG
ACCAGGTTGCCATCCGCTCCATGGTCAGGTCGCTGACCTTGTCTCAAAGACAATCAACCCTACTGCAGCACGGCTTCAGGTTTCG
CTGGAGCATTATTCATCATTCGCGCTCGTCCGGCCAGCGGGTCGCACTGTCTTACGGCCCTCCTGACACGCGCCAGAAGCTGCT
GGTCGACTTTTACCAGAAGGGCAAAGCCATAGCATCATCTGTGACAGCCTATGCCATGCAGATTTCGAATGAAGTGGATGGAT
TTCTGGATGGGCTGACACTGCTGGTTCGAATTTGGCGACCGCTACATATGGAGCAATGGTGACAGCCGTGACCTTGAGCGCCCC
TCACAGTCCGAATTCCTTTACAAGCGCCATGTCGGCCAAAGTATGGATACACGGTCAAAGGTGGCTACCCAGAGGGTTTCACCGC
TCAGGAAATACGCCAGTCCGTGCTGCAGATCGTCCCCCTCGCTGATGCTGGTGGGGATCGTGACCGGCTCGATCGTCTACCTGG
CCCTG**TCAGGGCAGCTGCCA**ACAGGCGGGGTACCGCCGCCGAACGAACATGACGACGACGGTACTCCAGGGGCGATCAGTCT
GTGCTCAGCACGCGCGGGCTACCTGGTTCAGCTCGATGGATTTCGAACAGCGCCTTGAAGTTGCCTTACCCGAAGCCATCGTC
ACCTTTGCGCTGGATGAACTCGAAGAAGACCGGGCCAAGCAGGGTTTCCGAGAAAATCTGCAGCAGCAGGCGCTTGTCTCCGG
GCTCGAGGCGCCATCGAGCAGGATGCCACGCGCTTGCACTTGGTTCGACCGGCTCACCATTGGCCCGGCGGCGCTCTTCGAGC
ATTTTCGATAGGTTTTCGCGTGGCGGGTTCATGAAGCGCATGCCAGCCCCCTTCAGCGCATCCAGGTTTCGAGCAGGTATC
GGTCAGGAAGGCCACGTGCTGGATACCTTACCGGTTGAAGTGCATCAGGAACCTTTCGATCTGCCCTGCACCTTGGATGACT
CTTCGTTGAGCGGGATGCGGATCATGCCATCAGGCGCAGTTCATGGCCTTGGAGGTCAGGCCGGTGTATTTCGCCCTTGATATCG
AAGTAGCGGATTTTCGCGGAAGTTGAACAGCTTCTCGTAGAACCCGGCCAGTAGGCCATACGCCACCGGTAGACGTTATGGGT
GAGGTGGTTCGATGATTTTCAGGCCGGCCCCCTACCGGTTTGCATCCACGCCTTCGATGAAGTTGAAGTCGATGTCTGATAG
AGCTGCCTTCTCGAAGCGGTCGATCAGATAGAGCGGTGCCCCCCCCGATACCTTTCGATCGCCGGCAGGCGCAATTCATCGGG
CCGGTTTCGATTTCTACCGGCTGAGCGCCAGTTCCAGGGCGCGGGCATAAGCCTCATGGGCATTGCGCACGCGAAAAGCCAT
GCCACATACCGACGGGCGCTGTTTCAGCGGCGAAATACGAAGCGATGCTCTTGGGTTTCATTGTTTCAGGATCAGGTTGATGCCAC
CCTGGCGATACAGGTGCACATCCTTGAACGCTGGGTGGCCACTTTGGTGAAGCCAGTATCTGGAATACAGGCTCTAGTACG
CCTGGGGTCGGCGAAGCCAGTTTCGATGAATTCGAAGCCCATCAGGCCATTGGATTTTCAAAGATATCAGCCATGTTTCGTGTT
CTCATCTGCAGCGAAAA**TTATTGATTGCGTGGGATGTGGAACAGGAACGGCGGTGAGCACGGAATGCCCCGCACGCTACGGGC**
GAGGTAGTCACCTATGATCAGCTTGAACCCATGGTATGTCATATGGACCCATCTCGGCGGGCTTGATCCTTCGGACGTGAAGG
ACCTTATTGTTGATTCGTAAATCGATTCTACATTGCGTAAATGGTTTGTGCGGTTTTAGTTGCTCGTACGCGGCGACAAAC
GGCTATCCTCTCGTTTTTACTCCATGATAGTCAGATCAGC**ATGCCCTTACCGTCAAACGCCGCGCCGCACTCAGCTGGCGCA**
CGCTCTTGCCCTGGGTCGTCGGCGTGCTGCCGGTCATGTGCGGCCCTGGCCGTGATGAAGTGGCAGGTGCAACGTGAAATGCAG
GCCAGCAGCCACGCCACCACCCGCCAGGCGTTGGAGCAGTTCGAACACATCCTCGACAACCTGTCCCGTGCCGCCAATTCGCT
ACTTCCACTGACTGACAGCCATGCGAGCAGGCCAGCTCATGCTGCGGGCCAGGTTACCCGCAATGCCTTCGTGCGCTCGA
CCAACCTGTTTCAGGCACAACAACCTTTATTGCTCCTCGCTGTTTCGGCGAGTTTCGAAGAACCGGTCAATCCTGGCGATTACGTC

GACGGCAAGTTATGGCTGATGGACGGCAACTCGGTTACCCCGGGCCACCCGCTGCTGGTCTACCGTGCCAGCGACGGCGACCA
CGGTGCAATCACCACGGTGG

21>chr1:4623446-4625272

PP4089-PP4090

hypothetical protein- Rhs family protein



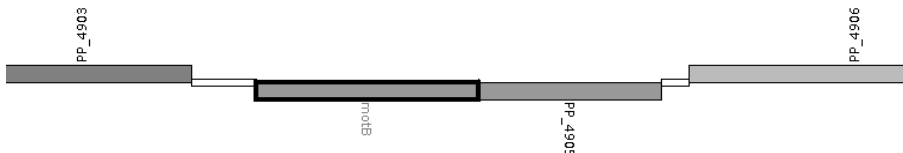
1336 -1 TGGTGAATCGTTTGCT 11.26 No es coherente con la orientacion

GGCAGCAACTGGGTGCAGTATTTTCGAGTACGACGCCGAGCAGCGGCTGGTTTTCGCTGGAGCAGTACCGCAGTGGCGAGCGTGA
GCGGGTGGTGTTCCTATGACCCGTTGGGGAGGCGGATCAGCAAGGAGGTTTATCAGAGGGACTATCCAGAGCCGCGTCCGGC
GGGTGCTGTTTCATTGGCAAGGGTTGCGCTTGCTTCAAGAAGTGCAGAGTGGGTGGCTAGCTTGTATGTGTATGCCACTCCG
GACAGCTATGAGCCGCTAGCACGGATCGATGGGTTCGATGGGTAGGGAGGTGGTTCAGTATTTTCATACCAACCTGGCCGGGCT
TCCCAGCAACTGACTGACGCGAATGGCAATGCGATTTGGCGTAACGATTATGAGGGCTGGGGGAAGACGCGGGATGAGTGGC
ACAGTCCACACCAGGCGAGAGAACAGAACCTGCGATATCAAGGTCAGTATGTTGACAGAGAAATAAGCCTCCATTACAACACC
TTCAGGTCTACGATTTTACCCTGGTCACTTTTATTCAACCGGATCCCATTTGGACTGGAAGGCGGGTTAAACTCATACGCGTA
TGGACCGAAGCCCGCTGGCATGGATTGACCTCTTGGATTGTTCTGTGGTGTGCGCAAGAGCTCGAAATGGAATAGAGCAGTC
AAAACCTTAATGGGCCCGGACTTAGAGATCATTTTCGAAAAGCATGGCTCTCAAGTAGGAGCAAATTCAGCGAAGGAATACGAT
TTTAGTGCAAGAACGACGATACAAAATGGAAGAAAATTACCTACAGGGACCGGTACACTAACAAGCCAAGAGTCGGCTATCA
CGATCCTGACACTGGATTATTTACCGCAACCAGTCAGACAGGAAAAGTACCTGTATTTTTAACTCATTTCCCTGAATCGTGGT
CAAACCTTAAGGCGCTACCTGGATTACGCACTCCAAATTAGAGGTTTATGATTATGTCCCCTGAGAAAAAATAATGGCTACC
ATTAGAAAAGGATACCGAAGACCTCATGACATTGAAATGCTGGCTAGCGAAATTTACACATGGCTTTGCAATGACAACTAGC
TAGCAGGGAAATTCTAATGGAATTTGTTTCAAGCGTTAACTCAAAATTCCTGACGTCATTCAACTAACCTTTGAATACT
TGAAGCGCTATCCACTCATGAAAGCGAGTTACTATACGAGGAGAGCGAAAAAATAGGGCATTATTTGATTCTATAAACATC
ATGACAACACTCGGCTCCATCATGATGACAACATAATCAAGGAATCTGACGAGCTAATAATTAACGCAGTGAAGAGCAAACG
ATTCACCAACCCACCAACAAATCAACACTGAGAAACCATGGTGGAGCAGAATATCAGACAAGCTTCTCAAAGAACATATTC
CCAATAAAAGTCTCTGACCAGCATTCCTATATATCAGCGCTCACACTGGCGCATTTAATCAATCAGGAACACTACTGAGATCTGC
GACTTTAATTTGTTTCAGGCGATGAACCGCTCGAGGCCTGCAATTCGCTACGACCCAGCGGCCGGCTGGTTCGAACGCACGGA
CGCCATGGGCTACAGCGTGAAGTTCCGCTACGACGCCATGGTTCGGCTACTGCAACTCACCAACGAGAATGACGAGTCATACC
GCTTCGGCTGGGACGAACTGGACCGGCTGGTGGCACAAAAAGACCTGGATAGCAGTGGCCGCTCTATGCCTACAACGTGCTG
GATGAGGTCATTCGTCTTACCCATGTGCCCTCGCTGACGAGCAGCCGCCCTGTCCGATAATGCCCCGCCGACACGGACGGC

22>chr1:5573548-5576688

PP4903-PP4904-PP4905-PP4906

ribosome-associated GTPase- motB (flagellar motor protein)- flagellar motor protein motA- metal dependenthidrolase HDOD



602 -1 TGGCACC GGCGTTGCC 11.79 No es coherente con la orientacion

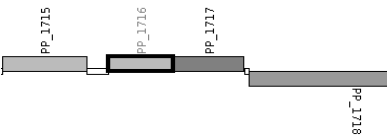
AGCGTGTTTCGTCGGCCAGTTCGGGAGTGGGCAAGTCTGTCGCTGGTCAACAGCCTGCTGCCAGACGCTGGCACC CGCGTTCGGCGA
CTTGTGCGAATGGTTCAGGCCAGGGTACCCACACCACCACCGCGCGGCTTTACCCTTCCCAATGGCGGGGACCTGATCG
ACTCGCCGGGTATTCGCGAGTTCGGCCTTGGCCATGTCAGCCGCGACGACGTGGAGGATGGCTTCATCGAGTTCGCGACCTG
TTCGGCACCTGCCGCTTCCGCGACTGCAAGCATGACCGCGAACC GGCGTGC GCGCTGCTCAAGGCACTGGAAGAGGGGCGCAT
CAAGCCGACGCGCATGAACAGCTACCGCTCGATCATCGCCAGCCTGGCAGAAGACAGCTACTGAAACGCTCGAAATGAAAGTT
GCCGCGATCCCTTGTAGGAGCGGGTTTACCCGCGAATACGGTGGCGACTGCAACGGTGAACGGCGGGTGGAAATTGGCCAGCA
GGTCCGGCCCTTTCGCGGGTGAACCCGCTCCTACGACGGCTGCGCCCAATCACCGATGCGTATGTAGCGGCTTTAGCCGCGA
ACACC GGCAACGCGCGGTGCCA TTCACCGCGCTGGAGGCTTCGCGGGTAAACCCGCTCCTACAGTATCGCGCCAGCGTTTCAGG
TGGTGGGTGGCACAGTTGCCACCCCAAAAGCCGCTTACTGTTCCTTGGCTTCATCCATCTTCAGCGTGCCATCTTCAAAGA
TGTTACAGTCTTTCGGCGAGCTCGCGCGGTTGCATCGGTGCCTGTTTCAGTTGCCCTTGGGTTCAGCCGGTGGCCGAAGCCCTGGC
GCAGCACCCTGGCTGGCGCTGCAGGTGCCGTTGGCGCAGCTGGCGGTGTTTCCGGCGCACCCCTGCTCACCTTCGATATTGCG
CTGGGCTTTCTTGGTTCAGCACGATGATGTCGATACGGCGGTTGACCGGTTGAACGGGTCTTTCGGGTGCAACAGTGACGACG
AGGCGTACCCACACCCGTTGCCACCTGGCCGTCCGGATAACCCCCCGCCACCAGGGCACGCCGCGCGGCGTGGCGCGGTTG
GCCGACAGCTCCAGTTACCGTATTCGCCAGTGGCGGCATACGGCTTGGCATCGGTATGGCCGCTGATGCTGACCTTGTTCGG
CACCGCCTTGATGGTGTGAGCCATGGCCAGCAGGATATCTTCGAAGTAGGGCTGCAGGCGCGCGCTACCGATGTGCAACATCG
GTCCGTTCTCGGCATCCATGATCTGGATACGACGCGCTCCTGAGTGATCTCGAACAGGATCTGGTCTTGAACCTCTGTCGAC
TGCGGGTCTCTTCCACCTTGTCTGCACTTCCTGCAACAGCATCCAGACGCTCGCGCTCGACCTCGGCTCGGCTCGGCTCGGCTC
GACCTGGTCTTGTCTCAGCTGAGTGGGGGACTGCTGCGCTCGGCTCGGCTCTTCACTTCCGATTGATGGTTTTGTCCGGCGCCA
TCTCCGGGGAACCCCCAGGTGCGATGACATAAGGCGTGCCACTCTCGGAGAAACCAATAGGGTCTTGAAGTAGCCGGCAATG
GCGATCTTCTGCTCAGGCGTGGCCGTGGACAACAGCCACAGCACCAGGAAGAAGCCATCATCGCCGTGGCGAAGTCGGCAAA
GGCGATTTTCCAGGCGCCACCATGGTGGCCGCCGCCAAAGCGCTTGACGCGCTTGACGATGATGGGCTGATTGTTCTCCATGA

CTCAGCGACCGCGAACCGCTTGTTCAGTTTCGGCGAAGCTTGGGCGGTGCTTGGGGTACAGCACCTTGCGCCCGAACTCGACC
GCCAGCGAAGGTGGCATGCCCGACGCCGAGGCCACCAGCGAAGCCCTTGATCGATTTCGTAGAGGTTTCAGTTCTTCTTGGCATC
GTGCTCCAGGCACTTGGCCAAAGGGCCGAAGAACCCTTAAGCCGCCAGAATACCGAAGAAGGTACCCACCAGCGCCGCACCTA
CGTCATGCCGATGGCCCGCTGATCGCCATCGCCAGCGAGGCCATGGTACCACGATACCCAGTACCGCCGCAACGATACCG
AACCCCGGCATACCGTCGGCGATGCCGGTACCCGCTGGGACGGGTGCTCCAGCTCTTCTTCATGCTCAGCAGTTCCATGTC
GAACAGGCCCTCGAGCTCGTGCGGGGCCATGTTGCCGGTGGACATGATGCGCAGGTAATCGCAGACGAACGCGGTTCATGCGCT
CATCGGCCAGTACCGTCGGGTACTTGGCGAAGATCGGGCTGGCAGCGGCGTCTTCGATGTCGGCCTCGATGGCCATCATGCCT
TCGCGACGGCTCTTGTGAGGATTTTCGTAAACGAGGCCAGCACCTCCAGGTAGAAGGCATGGCTGAAGCGTGAGCCGAACAT
CTTCATCGACTTCTTGATGACGTGCATGGTTCATGTGGCCAGGGTTGGCCTGCAGGAATGCACCAAAGGCCGCACCGCCGATGA
TCAGTACTTCGAACGGCTGGATCAGCGCTGCGATCTTGGCGTGGGAGAGCACGTAGCCGCCGAGCACGCTCGCGAATACGACG
ATGATGCCGATAATTTTAGCCATAGGTTCAAAGCACTTGCTGTCGTGGTCAGGGTAAGAGACGGGAGCTTTAAACTCTTCTT
CTACTTATCGGCAGAACTGCGCCAGACTATAGCCACTCAATGCGAAAAGCCAGTTCGGACTGATGTCAAATGCCAATTGAAA
CCAAGGTGCCCACTCAGGCCCGCGTACGCTAGAGGCCTGGGTAAAGCTGCTCGAGAGTGTTCGCATCCCCGTGCCGAAGCAC
AGCTACGACCGGGTCATGGCTGCCATCCACGATAGCCGCCGCTCGCTGCGCGATATCGCCGAACCTGATGCAGGATAGCCCGGC
ACTGGTGCTGTCAGTGATGCGCGAAGCCAAATCACCCACCAATGCCAGCCTCGCCGAACCCGCCGAAAGCCTGGAGGTTGCTC
TCAACCGCCTGGGCCTGGAGCGCAGCGAGCAGCTTCTCAAACGCCCTGCCGGCGCTGCCCGTGGAGGAAATTCGCCCGGTACTG
TGCCAGTTCCAGATGATCAGCCAGCATGCGGCACAGCAAGCCAGCGGACTGTTTCGCCAGCCGCCTGGCA

23>chr1:1915965-1917775

PP1715-PP1716-PP1717-PP1718

hypothetical protein- Cro/CI family transcriptional regulator- hypothetical protein- diguanylate phosphodiesterase



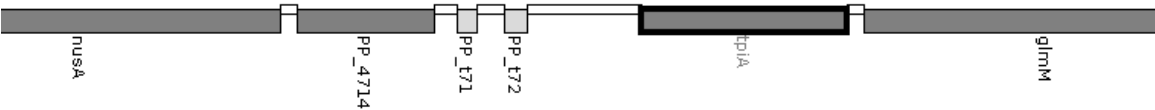
47 -1 AGGCACAGCGACTGCA 12.10

CTCGGCCAACTGCGTGAAGATGTGAAGCTGCTGTCAGTCTGTGCTTGGCCTGGTGGAGGGGGAGTACCGCGCCATCAGCCC
CAAGGCACTGGTCACTGTCGTGGCGGGCCTGCTGTATTTTCGTACGCCCCATCGATGCCATCCCGGACTGGTTGCTGGGGGTGG
GTTTCTTCGATGACATCGCGGTGCTGGGCTGGGTACTGAAAACCGTGGCCGACGAGTTGGCGCGCTTCAAGGCCTGGCGCGAT
AGCCAGGCACCCGAACGGCTGCGCGTGGTCGAGCGCTGCCGGCTACCCCGAAGCGCTGCGGCTGGAGCGCAACAAGTAATG
AAACCGGCCTGAATCTCACCTCAACTGCACAGACCTCGGAGTTGGTAATATAATTGGCATAAGGGTTATGCCTACGGATTACA
TGCTGTAATCCTTTTAAAGGGGTTTGTAAATGGGTATTTCAGGTCATCAGCCGGGACGGTCAACCCGAGTACGCCGTAGTTCCC
TGGGAGCAATACCAGGCGTTGCTCAGCGCTGCAGGGCAGGCACCAGCCGAGGCGGTTTCCAGTGAGGCGCAGGGCGTTGCTGC
CAGTGCCCCCTCTGCCAGCCTTCAGCGAAGTCGCCAGATTGCCAGGCCAAGGGCATTGCCCGGAGCAACTGGCGCGCAATG
TCGGGGTGAGCCCGCGTATCTGGCCATGATCGAATCGGGTGAACGCCAGCCAGATGCTGCCATCCGCCGCGCCCTGGCCTGG
CATCTGGGGGTGGCTGGCTGGAGCGAGCCATCATGAGCCAGGTCAGGATCAGCCGTCAGCACTGGGATAACCTGCTGGGCGAG
CTTGACCTGGCCCGTCTCAACGTCACCTTGCTGACATACCGAGCGCTGATCGAGCGCTTGCAGCTCCCCAGCCCGGCCATGCA
GACGCTGACTGCCGCGCTGGAATACCTGGCGGTGCTGGATGCCCGTGCCGAGCAGCCATTGCGCAGTTTCGTGGTGATCAGCC
AAGGCGCCAGCCGGTTGCCGCTACTGGCTTCTTTGAGTGCGTCGAGCGCTGGGGCGGTTTACCGGGCCGGTCGATGGCATG
GAGGCCGCTCTGTGGCATGCCTCTGAGGTGGTTTCGGGTGTTTCGAGTACAGCTATCCCGAAACGGCCTGAAGCGTTGCCATTTC
CAGCCTATTCTGTTATAGGTGGTGACCCTGAGCGAAAAGGCAGGGCCTGCTGGCCAAATTTCCACCCGTCGTTCTCCGTTGCCGC
CGCCACCGTATTTCGCGGGTAAACCCGCTCCTACGCTGATTGGTGATTGGGCACAGGCCCGGCTAGGAGCGGGTTACCCGCG
AATAGGCCGCGCAGGCGAGCGCATCCCTGTGAATCAACCCGACCCCTGCCATCGGCATCCACCACTTCCAATGCCTCCAGG
TGCTGGTATCGGCCAAACAGCTCCAGCAGCTGCCGATCGTGGCATCTCAAGTGCACCTGTCGGTTGTTTCAGCCAGTGGCACCCTG
CGTCAACGCTGGTAAAGCCCGCTGTCGCGCACCCCATCTCCTGTGGCCGCCCTAGCAAATAGCCCTGCACCAGGTCCACGC
CCATCTCCACCAGCACCCGCCAGCTCTTCCGCCAGCTCGATGCCCTCGGCAATCACCTGTGCCTTCGATGCGCGGGCGATCTGC
AAGATAGAGCCAACAACTCGCGCTTGAGCGGGTCACGGTGGATGCCGTCAATGAAGTGCCGGTCGATCTTCACGTACTCGGG
GCGCAGCTCCGACCACAGGCGCAGGCTGGAATAGCCCGCGCCCAGGTCGTCGATGGCAATCGAGAAG

24>chr1:5359923-5362587

PP4713-PP4714-PP_t71-PP_t72-PP4715-PP4716

nusA (transcription elongation factor NusA)- hypothetical protein- tRNA-Met- tRNA-Leu- tpiA (triosephosphate isomerase)- glmM (phosphoglucosamine mutase)



1433 1 TGGTGAGCTTGTTGCT 11.21 no es coherente con la orientacion. En la +1

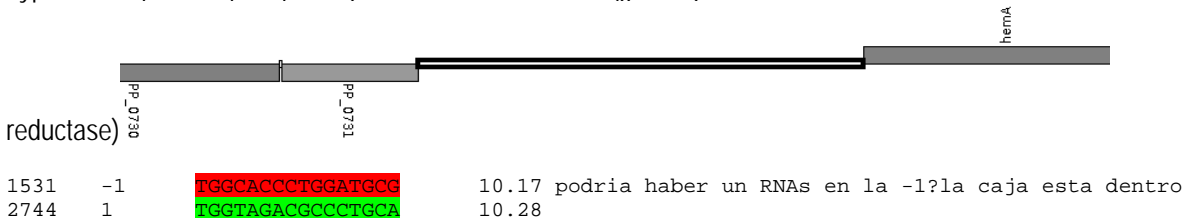
ACCTGCTTGGCGGTCTGGGCGGCAATACGACCGAACTCGATGGACTCGATCTTCTCTTCGATCACGTCACCGACCTTGGCTTC
AGGGTGGGTGTCCTTGATCTTGTCCAGCCAGGTCTCGATCGCCGGATCATCAAGATCGGCTTCGTGACCACGGTCCAGCGAC
GGAAAGTCTCGTAGCTACCGGTGTGGCGGTTGATTTCCACACGTAGGTCGACTTCGTCTTCAAACGTTTTTTGGTTGCAGTG

GCCAGGGCCACTTCCAGCGCTTCGAAAATGACGCCGGGCGGTACACCTTTTTTCGTTGGATACCGATTCAACAACCAGCAGTAC
 TTCTTTGCTCATCGTACGCCTCGCCTTGCGCAAGCCATTGGGCCCGGATAGTCCGCCGGGCGGCACGTCCTAGTCAAAACT
 GGAATAATATTGGCCTTGTCGATCGAGTCGATCGGTAACAAGGAATCCTGGTTGTCCACCTGGACCACCACATCCTGCTCCT
 CCACACCGCGGAGAAGGCCCTGGAAGTTACGACGACCCCTCGAAGGGTGAGCGCAGCTTGATCTTCACTTGTTCGCCGGCATGC
 GAGGCAAACTGTTCCAGCGTGAACAGTGGGCGATCCATGCCTTCGCAGTCGTCCACCAGAATACCGCCTTCCTTGTCGATGTAGA
 TTCCACATCGAGGATTGCGCTGGCCTGACGGCTGACTGCTTCGCAGTCGTCCACCAGAATACCGCCTTCCTTGTCGATGTAGA
 TGCGCAGTACCGAATGCTTACCCTGGGAAACGTATTGATCCCCCAGCACTGATAGCCCAGACCCCTGACAACCGGGGCCAAC
 AAGGCCTGCAACTGTTCTAGCTTGCTCGACACCTGAACCCCCCTCGTGCATGCTGTGCAAATAAAAAATGGGCGAAGCGCCCAT
 CCCTGAAAAGCGCCGTAGGACAACGACGCCGAAACTGTTTCGGTTAGCAAAAAGCCCCCTGAAAAGGGGCTCCGCTGAAGCTGGTT
 GCGGGGGCTGGATTGTAACCAACGACCTTCGGGTTATGAGCCCCGACGAGCTACCAAGCTGCTCCACCCCGCGACAAAGCTGGG
 GCAAAAGTATAAGACCGAACCCTGTTGAGGGTCAAATCCAAACATTACCTACAAGAAAGCCCGCTAAAGCGGGCTCTCAAGC
 TTTAATTGGTACCGAGAAGGGGACTCGAACCCCTACACCCCTATGGGCACAACCACCTCAAGGTTGCGTGTCTACCAATTCCAC
 CACCTCGGCAATACTACTACTTGAACCCGTTACTTCTGCTCTTGAGCCGGAGGAGGTACATCACCCGTATTATTGGTGGTTT
 CGCTCTTCTGCTGTTGGAGCACCGGTACATCATCTTAACCTGCCGGTTTTTTCGGGCTCTTTCACTTCTAGCACTGCTGGATCT
 GGAAGACCTGCTTGCTAAGCTGGTGAGCTTGGCTTCGCGAAGTATCCTAACCCAAAGTGCTGTCAAAAAGAAAGTGGCAGC
 GAGTATAGCAGTTAATTTACTTAGGAACGTTGCAGAGCCTTGGCTCCCGAACACGGTGTTTGGAGGCCCCCGCGCCGAAAGATG
 CACCTGCTTCAGCACCTTTACCCTGTTGCAACAGAACAGCACTACAAGCGACAGCGTGCCAACAGATGAAAAACAACGATG
 ACTGTTTCCAGCATTTGTTCAGTTTCTGCGGCGCGACAAATTGCACCGAATTTCGTCTGCGTTTCAGGGAAGCCCCACCAATGA
 GACCCCATCGATATCCGGCATGCCGAACAGTTTCGGCCGCATTTGGCCGCCCTTACGCTGCCGCCGTATAGCAACTGCACCTTC
 GCAGCCACTTCAGCATCTTCTGCCGCCAACTGGCCGCGGATGGCCGCGTGCACATCCTGGGCCCTGCTGTGGCGTGGCCGTAAG
 GCCCGTACCGATGGCCCATACAGGCTCATAGGCAATTACTGCATCGGCAAAAGCCTTAACACCGAATGCTTCGATGATACTGC
 TTAGTTGACGCGCCGACAACCTTCGAGCGCTTTCGCCAGCCTCGCGCTCCTCAAGGGTTTCCCTATGCAAAGCACTGGCTTCAAG
 CCTTTGGCGTGGGCGCTGCAAACTTGCAGATTGCGACTTTCGCTCGGTTTTCACCAATAATCTGGCGACGCTCCGAATGGCCAAT
 CAACACCAACTTGCAACCTGCTTCAACCAGCTGCTCGGGAGCAACTTCCCGGTCAGCGCACCCCTGTTTCGGGTTGTACAGCAG
 AATTCTGTGCGCCGACAGTAATTTCTTTACCTGCCAGGCCATCAATCACCTGATTGATGAACAAGGCCGGTGGAAATACGGCG
 ACTTCCACTCCGCTCGGCAAGGCGAGATTACTCAAGCCTTTGGTTCAGCTCAGCGACGCTAGCGCGGGTACCGTGCATTTTCCA
 GTTACCAGCTACCATAGGGCGACGCATGCTTTACCTCGTCGGTCAAAGTGGGCGCAGATCTTACCCAACCAGATCTGCGCTGG
 CAAGCGCCTTCAGACACAAACTTCGCCGACCAGTTTGGCCAGCGCTTCAGCATGGGCCCCGACCTGGCTTTCTGCTCTCGCCCT
 CAACCATGACCCGCACCAACGGCTCGGTACCGGACTTTCGCGAACAGCACACGACCCCGCCCCGCCAGCGCTTCGGTAACCTTG
 GCACTGGC

25>chr1:848558-851639

PP0730-PP0731-PP0732

hypothetical protein- phosphatidylserine synthase- hemA (glutamyl- tRNA



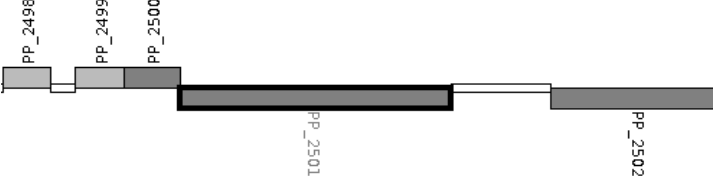
GTGTTTCATTTGGAACCTCGGATTACCAGGGATGAAAGTAAATAGTGCTGAGCCCGAACAGCATTGCGAAGCAAGCGACCGTCG
 AAGGTGCGCCATACTTGGGAATTTCTCAAGCTGGTGACCTGGAGGATGCCGACCAGGGCCATTAGGCCGACGATCACACCGGCA
 CCGTAATGCCCGGCCGATAACCCCATCAGCGCCAGCGCAAAGACAAATCCTGAATATGTGGTGGGTAGCCCTGATATCCCC
 GCCACCGATGTGCCGGGCATGCCAAACAGCGATAGCCGCAAAATGGCCGTGAAAACCAGAGTTACTGCGGCCAGCGTGGCCG
 AAAGAGAGATGCTCGAGGATTAGGATGACAAGGGCTGGCGTGATGCTGAAATTGAGCAAGTCGGCAAAACTGTCTAGATGCTTG
 CCGAAGGCCCGTTGCGCGCTGTTTCGAGCCAGGTAGCGCCGGGCTATGTGGCCGTCAAGGAAATCGAGCATCGCGGCCAGGCA
 AATCATCGTCGCCGCCAGAACAAACCGTCTTTGCAACGCAAAATAAACAGTACCAGGCGAGCCGATATTGAACATTGTTA
 ATATGTTTCGCCAAATCCAAAAAGACGACGACGAACGGAAACACACGCGCCAATGTGGGCATATTGTTCTCCTTGAAGAAATTATTT
 AGACAGGTTGTTTTCCCTTGATCGGAACTGTCTGTCAGGGCGTTGGATGCGACGAAATAGAAAGCAACGAAGATAATGCT
 CGTGCTGAACAGGCCAACATACTTAACCAGTATTGAGCCGGCGAAGATGGTGATTATCATGCCTAAGTAGACCCCCGCATACT
 GGACAGATGCCATCAACGGCATGGCGCTGGTAGGTGTGCTCCTGACAAGATCGGCTTGCAATTTGAAAAATGCCAGTTTCGAAA
 AAGAATATGTAGAGAAAATACGCGATGTAACCTGGACTGAATATCATGGCCGAACGCTGCGAGCATCATGAACAGGCCGCTGAC
 TACAGCCATCGGCATAGGTAGCGGTTGCACATTACCTTGCCCAAACGATAGAACAGTACTGCGCCACCAAAGCTGCCACAC
 TATTGACGGCCTGCAACAAACCGACATACACCTCTCCCAAGCCAGCACATAGGCCGTAAACAATGACCCCTGGACACATTGAAG
 AAGCCCTGAAAAAGGCTGACGAAGACGATGAACTGATAGAGGCTGAGGCGTAACGCGGGATACTCATGAAAAGCGAACCAAG
 GGCAGTCAATAGTCTTGGTGCGACCTGCACGGTGATCGGAGGCTTTGTTGGCGCAGGTAGTAGATAGGCCGCCAAAGCCGCGA
 TGGAAAAAAGACTGACAGTAATGAGCAGGGCTAACCAGGCGTCATGTTGGCTTTGAACAGTAGCAGACTGATGCCTGCCAGG
 CCGCCGGCAATGAATTGTGCGGTGAGTGTGAGAGGCACTGAGCTGGCGATTTGCGCACCCGGGAAATAACACTTGATGGCAAC
 AATACGCCCTTACCCGTTGCAAGCGCATCCAGGGTGCCATGACTACCGCGCCTAACACGACGACTTCCACATGATGTGGCAGGA
 TTTTGTAGGTGGCCGCCGCGCAGCCAGCGACAGCAAGTTGGCACTCCACAGCAAGGTGCGAGGTGCTAGATAGTCAGCCAGT
 CGGTAGATTGGAGCGACAAGAATTACCGGCAGAACCATTTGGTGCAACAGCACCACTTGGGAAAGTATTAGACTAGCAGTATG
 AGCATAAATATAGTAGGAAAAATAAATATAGCTCAGCGTAGAGGCCGAAATAGCACACAAGTTAACGCCCCAAAGAAGCACTG

AGTGCCTACGAGATACTGCAAATCTTCCATTGCTCGCGCCTATTATATAGCTTCCTGCCATGCACGAAGCATACCTGCATT
GGAAATCGTTTTTAAGATAAGCTTAACAAAACTGAAATATAAAAAATGCTTCTTGTGGTGTGTACCAAGTAAGTGTGCATCA
TTCCAGTTCATCATTACCGCTGCTAAACCTCATCAATAAACTTCTAAACATCGGCAAAATTAATAGCTGGAACCGACTGAC
TGATAGCTCGATGCAATCCAATCGTATCGTGTCTCAGTGAGGAATATCGATGTAGCGGTGAAGACTAGGTCCGGAAGGAGG
GTAGGGCAACAGTTGGGCATGTATTTGGGAAATGGACTACAAGACTGTGGATAAATCTTTTGGAAATATGTCAAAGTCTTCT
CGACCCGGTTCGGCGTAGTTGGCTAGGGCGATGTCGAGCCGATGGCTCTGGCTTTTGTCTTACTGTGCTTCTAAGCGCGCGG
TTGATCAGGCGCTGCAGATTGCGACTTCAGGAGGCCGAGCGTAGGGCTTGTCCCGGGAGGACCGCGCTGCAGGCCCCATCCT
CGGGCACAGCGCTTGACGGGCATCCATGCCCGTCACCTCCCTGCGCAAGGCCTGCGTTTCGGCTCCTGAAGTCGCGAAGATCA
AGATCAGGATCAAAAGCCAGATCAAAAGCCGGCAAGACCTGAAAACACCGCTAGGGCAGGCTACGAAAAGGCGATAGCCGCTG
CGCTATCAGCACAATAGCGAACGGTGGTTGTCCAAAAACCTGCGAAAGAGGACAATTATCGGCTTCCCGTCACAACCAGCGAC
CTTGATGGCCTTTCTTGCACTTGGTATCAACCATAAGACTGCCTCGGTAGACGTACGCGAGCGCGTGGCGTTTACCCAGAG
CAGCTGGTAGACGCCCTGCA

****26>chr1:2846143-2849249**

PP2498-PP2499-PP2500-PP2501-PP2502

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- phage integrase- LysR family transcriptional regulator



2554 -1 TGGCACAAGTGGCA 14.42 si pero la caja esta dentro
2824 1 CGGCACTGTGCTTGCA 12.62 no es coherente con la orientacion

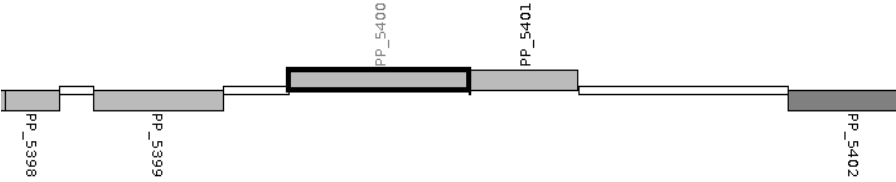
CAGTAATGTGTGGCTGAGATTTTTTCGAATCGAATGCCGGGCCAGTTATAAAAATAAAAAATCTGACTTATCTCTATTTGAAAG
TCCGTGTTGGCTTCAAGCTCATCCGGGGACGGGATCTTTGATCCAGATTCTGCTCCTGCAACCCCTCGGGCAATAGGGGCAAAGAG
GTTTTCTATGCGAAACATCTTCTCTGAGGCAGCAGTCAGCATTTCTGAGCTGAAGAAAAATCCATCCCGCATCTTGGCTGAAG
CCGCAGGTGCCCCAGTAGCCTTGCTCGACCAGGATCGTGTATGGCATATCTGGTGCCAGCAGAGCTGTACGAACAAATACTG
GAGCGCCTGGACGATTTTCGAGCTGGCTGCATTGGCGAAGGCTCTGGCAGCTGAAAAATCCATCCGGGTGTCCTTGGAAGACCT
TTAAGCAGCAGATGCTCTGGCTTGGATTGGGTTCATCCGGTGTATGCCATCGGCGTATTATAGGCAGCACAGTTTTTTTCT
GCTACGATATTCAAAGGTAATACCTTTAGATAACGGGGGCTGACCATGGCCACTTCCATCAAAATGACGACGATCTGAAAGG
TCGATTCAGCATTTGGCTTGTGTGCGCCAGCGCTCATCTCACTGGATCATGCGTGAGGCGATCACCAGTACGTCGAGCGTG
AGGAGGCCCGTGAGAGCTTCAAACAAGAAGCGCTGGCATCTTGGGCTGCATACCAGGAAACCGGCGAGCACTTGACCGCCAG
GAGGCTCGCACCTTGAGCTTGGTAGTTGGGGTACAGATGCTGAGGCAGAGTTACCCAAAGTGCCACGACTGATCGTCACTGAAGGC
GCGGCGAAGGGCCTGGAGCGTTGCCGGCGATTCTCTCCGATAAAGATCCGCAGGTGCGACGCGCGTGTGCACAGGCAATCGA
GCGCCAATTTCGCTCGATTGGAGGAAAGTCCGGAAGTAGGGCGTCTTTTCCAGATCTGCCAGAGCTGCGTGAGCTCATCATCG
AGTTTGGTGACTCAGGTTACGTCGCGCTGTACCCTATGAGCGCGCAGATGACACCGCTATGTCTTGGCCTTTTCGCCATCAA
AAAGAAGCTGGCTACTGAGACTGGACAGCAGCTACCGGGCTCCCGGCAAGAATCGACTCCAGCTTCTCGCCCAACAAGCGCCA
GGCTTCGGTTTTTTCTTGGCGTAATCGTGGTGCAGGTAATGTCGGCGTACCTTCGAGCCGCCAGCAGATGGTTCTGGCAGC
GGTCGATTATTTCCAGTGTACACCCAGCTCCTGCATCATCGTCGCGCCCGTGCAGGCGCAGGTGATGCGGGGTCCATTACCC
TTGGTTCCCTTGCTCAGTACCAGTGAGTCGTATGATGCCGGCCGGCCAGTGGCTTGTGCGGTTCTTGAATCGACACTGGCG
GTCTCCGATGAGCTTGCTGACAGTCTTGGTATCAACGTGGCTTCGACCATCCTTGTGTTGGGAAGCAGAACGGCGTATCGCCGG
TTTCTTCTGAAAGCGTTTGAAGTGCGAATGGAACAGCTGACAGGAACACGTGGTGATCCTGGCGCTTGCCTTTATGGCCC
TTGGTGGCCTCGCAGGGATGAACCAGGTGCCTTTCTCCAAGTCCACGTACCGCCACTCGGCCTTGAGCAACTCACCAGATACG
ACAGAGGGTGCTCAGGCAGATCCACAGAGCGCACTGGACTCGAGTGTTGACCGGGCGAATGCCTGAATACTTCTGGCCCGCAG
GAAGCTCATCGTAGTCATTTTCCAGGCGTTCCAGGACGTACGCAGCTCACGAATCTCGTCAGGCGAGAGCAGACGATCCCGC
TGCTCTTCGTAGTCATGGTCGAGCAACTTGTTCACGCTCATCAGGTCGGCTGGATTGCCGTGATCATGAGGCCGCGCCATGG
TTTACGTTTCTCGGCCAGCGCAGCATCTGGCCGATGTCTTGTGCGGATAACGACGGTGCAGTTTAGGCCGCGTATTTGA
CTGAGCGCAGGACAGCGAGCAGATCCTTTTTCAGTAAGATTGCGCAGCGGCTTCTTGCCAATGAGTGGCAGTACGTCCTTCTTG
AAGCTGCGGATCAGCTCGGCATTGCCGTCTTGCGGGAGACGCCGTACAGTATCCACTCATCAAAGAGATCGGACACTGTCTT
GTTTTCTGCGGCTTTCAGCTCTGCTTTCAGCAATAGTGGTGGCGATTGCCGCTTGCGCCTCGATCCGTGCAGCTTTGGCGCAA
GGGTAGGTGCGAGGCTTTGGTGACGAGTACGCGGGCTTCGTCGCCCTCAGACCGAATTTGCGCCAAGCTTTTCTTCGGCCAA
CTACCCAAGCGCTTCTAGTTTCGCGCTCCATCCAGCTTGAATTTCATAGCTGAACCTGAACGTGATCCCGCGGACTCCGACACG
CACCTCAGCAACCAGTCTCCATCCTCACGGAAGACCTTGCCGTATCTTGGCGTGTGAGTGCCCTCAATTGCTTGATCGTTA
CCTTGGACACTCTCTACCCCTAGTAAAAATCTCGCACCCGAATTTTG

CCACCATGGCACTGACACAGAGTGATACGCCCCCTCAGCTGCCAGCGGCCAGTGGCGCCGCTTGTCCATGATGAAGTCGACG
AAGGCCCGCAGGCGCAACGGCATGTGTCTGGCCCTTG

27>chr1:6155128-6159714

PP5398-PP5399-PP5400-PP5401-PP5402

ISPpu14, transposase Orf1-hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- syr2 transcriptional regulator



Inverted repeat (palindrome) CAGCGAAAAC GTTTCGCTG
TAAAAGCCGCC GGCGGCTTTTTTTT

Rho-independent transcription terminator TERM CCGGCCCTCTCAAGGCGGC

-1	AGGCCACGACTTGCT	12.34
1	TGGCGCTGAAATTGTT	8.42
1	TGGCGTATCGACCGCT	7.44
1	TGGCCACCTTTTGAC	7.58
1	CGGCAGGGTCGATGCA	7.90

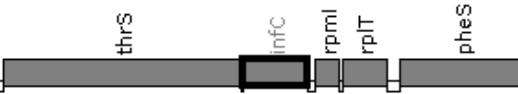
CCTGAACGACCTGGGCTTTGAACGGTTTCGGATAAGAGCTTCGTTGGCGCATGGAAATCCTGGCAATAAGGGTGATCGCGTCC
GCTTAAAAATACGCGACACCATCGCCCTTAATGCTGGAGTTCGGAAGGTGAGTTCCTCCGACGCTTACTCGCTGTATGCGTT
CGAGACGGGAGCAGAGTTGTACTTTCTGGACGCAGGGAAATCAGGTGCGGAAGTACTGCAGAATTTCTCAAAGTTTCCAAGC
TGCTGCATTTCAGACGGCCACTGACAAAGCCTGGCTCTAAGTCAACAGGTCAAGAGTGACTGGCACAGTAAGGGCGGGCTGGGA
CTGGCCGCGAAGGCGCGACACGAGGGCACTCCAGTCCCTTCAAATCACCAGCGGGCCGAGACTTCGCTGATACGCTCCAAATCCT
GAGGGGTAAAAAGCGAAGGGTCACTGAGCTGTACAGCATATGGAGCCTCCATGGTGGCGGTGAAGCTCACTGCATATTTTCTG
GCAGCGTTTCCGCTGAGCGCGAAGTTCGCATTTTTTACGACAGCAGTAACCTGCGAAGCACCTAGCGGCTTATCACTAGAGAA
ATTTCAAGGTGGGCTGCAGTCACCTCTATCTGTTCACCGCCAGCCGCTGATCCGACCTGCAGACCAGGGCGTAGTGGC
TCGATTTGCGCCGCTCTGAAGGAAGATCTGCTCGGCTGGTGATCAAGACGTGTTTGGGGAGAGGCACAACGTTACCTCGCCCA
TCGACCCAACCTGTTCCAGACAAAGATGTCTTCAGGGCGAACGTCAATGTCTTCGGCTTGCTGAACATCGGCGAGAACAGAAC
CTGCATTTACCATCAATGGATGCCGAGCATCGCGAGCATTTGTCCGAAGCGACTGGCCAATGCCCCAGAAGAAAAGACCGT
CCCCGAGCTGACGCTCCCACTCCCTTGCAGACGCACGATAAGGTCCAGGCCCTTCGCTGATTTCGACGCCCATTGTTGTCAGCAG
AAGGTGGAGGGGATCATGAGGTGTGGGTCCAAAGGTACATAACAAGGACCAGCGTACCAAAAATCTATTCAATTTGTGTAGGT
GAATAGCCTATAGTGAATATCATGAATAGCACCAAGATCCAGCACGCCATAACCAAATCATAGAATCCATCAAGGCAGATTC
CCGTAGCGATGCCGAAATATCGAGGCAGAGCGGGGTTTCTCAGCCAACGTGTATGGAGGCTACGCAGTGGCCACAAACCTAGGC
TAAGGTACAGCGAGCAATTCAATAAGCTGTGCACCTTCTACGGGGTTAATGAATTGGCCGCACCCTTAGGGCATGGTTCATTG
GAGACTGAACTGAAGGATGCAATAATGTCCGTATGGGATGGCTCGGATGCTCATGCCCGGGCGTTGATTAAGGTGGTCCGGAG
CCTGAAGGGGCTTGCAGCGAACTCTGTCTGGTCAATCCGTCGCCGCTTTCTGCTCATGGAGGTCGCAATGCCGGCCACTCAAATT
GATCGAATCTTCGGGGCGCTGGAGTCAGCTGGCTATCCCCGTGAATTCAGAGTTCTCTGCTACCCGACTGGGTGACCAGCGA
GATGCTGCAGGATGAGGGAGCGACTCTTGAAGTCGCATCAATCCTGGCCAAGCGACTGGGGCTACGCGTCGCGCCCTTGTCTCT
CCGACAGTCTGGGCTGGAAGATCTGCGGCGCCGTGATACCAAGTACAAGCGCTCAATTCCCAACAAATCGAAGAACCTTAGC
GCGGCGACCTCCCTGGCGATGTTTGTGTCAGAGTCCATTGCCTACGCAACCCCCCTACGAATACATCCCCCTTTCCACAAGACCC
GTTGCGATTCCGGAACGAGATTCTTGGAACAGAAGGTGGGAATTGGTTAGGCCCTGCGGAATCTGCTGCAAGCATGTTGGCGCC
ATGGCGTACCTGTGATCTATCTGGACGAGGTGTGCGAAGGACTACCCAAGATGGATGGCATGGTCACCATGTTCTGAAGGGCGA
CCTGTCAATTATCTTGTCAAAAAAAGCAAGTCGTGGGCCCTGGCAATCCTTCATCATCGCTCACGAGATCGGACACTGCGCTTT
AGGCCATATCGACCTAGATGAAATATTGATCGACGAGACGTTGGGAGAGCAGTCGTATGCACTGGACGATCCCGATGTAGACG
AGCAGGCGGCAGATCAGTATGCGATCACCTGCTAAACGGTCGAGCAAACGCAACCTACGGAATGGCACAGGCAACATGTCC
GCATTGGGGCTTGCAGATGCGGCCATGCAATATGGCAAGGCAAACCGTGTGGATCCCGGTATGTGGTACTGAATTTTGCCAA
GCACAATGATGCCTGGGCGCTAGGAATGGCGGCGATCAAACTTCTACAGGCGGGTGAAAAACAGCCGGCATCGTAGTCAACG
ATCTGCTCTGGCGTTGTATTAGGCCGGATGTTCTCCCTGACGACACCATCGATCTCCTCTACCGTGTGGCTCCAGCCGAATAG
GATTTTCGCAATGGCGCTGAAATTGTTTATCGATAACGACGTGATCCTGAAGCTGGCCCAGTACGGAATGCTGGAGCATCTTCCA
AAGCTTTTTTACACGAAGTGAGAAGATCCAGGTGTGGTCTTGGACTCCGCTCGTTACAAGCTGCTGCCTAAGCAGAACCCTCT
CAAGCTGTGTAAAAAGCGAGGAGGCTGCAGCCAGATCTCAACGCTGCTGGGCTTGGCGCATAAGATTTTCACTTCTGACGTTG
ATCTGGATGTCTTAGAAAAATTGCACGCCGTGCCGTTGGGATCGATGCCGTTGAAGCACTGCTCTTTGCCGCCGCCGCTGCGGAT
GCTGAGTGCCTGTTTTAACTGGCGACAAACGCGCGCTTATTTGGACTAAGCGAGCATCATCTCGAAGCGATAGCGCCAGTTT
AAAGTGCAAGATCATTACGCTTGAAGGGCTGATCTGGGGTTTTCTTTGAGCATGACCACACAGGCACACAACACGCGATCCGCT
CCAACCCTGCTGTTGATAAGGCCCTAACAATGGTCTTTGGCGTATCGACCGCTGCAACCGAAGAAAGCGTGCAGGCAGGACTG
AATTCATACGTCGGGCACGTTTCGCAATTGCTGGGAGAGATGATTAATAATGGCCACCTTTTGACCTGAGTAGCTACCAGGCG
CTTTTCGGGTTCTCAAGGTGTACTGATTGATCAGTAAGCGCGACGCTGCACAATCCTTGAAGAACCCTGCCGGCCGCGAGCA
CGCAGGGTGCATGCACTATGGGTTCGAGGCGATCAAGCATATCCAGCACGCCGCTAAACAAGCGACCTACGCTGAACACACTAG
CGAGCGCACACAAGCCTCGCCAGATACGGCAAAGCATAAGCTTCCAGCTCATTTGGAGTTGGTTCCTTTGTGTGAAGCCTGACA
CCGCCGCCCTTACCGGCCAAGGCGACGGCTTACTGAAGGATGTTTCGACCGTTTTCAGTACGCCAGGATGTCTATGATCCCCCTT
ATTACCGGCACGTTTCTCAGGCGTGGTGAAGGGAGTTGAAACCAACCGACAGGTGGTTGCTACGTTTCATCGCCGAGAATACCA
AGCGTTCTCAGCATGTTTAAAGTTCACTGTGATAAGCAGCAAAATCAGCGAAAAACACGCTTATTGACGGCTTCGTGCAATCT

TAAACCGTTTTTCGCTGCTCCACAGTGATGCGTCAATGAGGCGAACCAAGCCGCAAGTGATCCATTTTCGCTTTAGCGGCTAAAT
TTTTTCGTTTGGTTGCGTCATTAATTATGATTTAGCTATAGTCCCTCAACGTTTCGACTGTTTCAGTACGTCGCCGACGAACCTCT
CAATTTCGTTGGCTAAAAA**GGCGCCCTCTCAAGGCGGC**TTTTTTTTTGCCTCGGATTTCGTATCGGTACCGTCGTGCTGCCAGTGT
CGCCGAACCTTGATCACTGTGAGGACCAGATTATCATGCGGTACACTCAACCACCTGTGACTGTTTCGGCCTGTTGGCAACCACGC
CAGTCGTCCGGCCGCCACATGGCCAAAGAACAGAGGCCATGCTAACGCGCATTTCGCCAGAGATGATGAACGGGACCACTGCAA
AAAAATGCGATACAGCGCGAAGTATACCGCGAGCAAAATCACCCGTCGCGCGCAAACCGTCAGCCCATTCCTGATAACCGGTAA
TGCAACACATGCGAATGTAATCGAACTCTCACGATTACGCCGCACGCTTGCCCTCCAGGCCTAATGGAAGAATGCACGTACGAA
CGAGCAATGATAGCCGCTTGAAATGTGTAGAAATTCGTCACTACTCACCCGCGCAACAGCAGTGAAAGGCCCGTATCTTCTG
AGGTAGCGTGCGTGAGATATGTGCAAAAAAATGTGCACATCATCAGCGGATTGGGTGGTGTGCAAGCTTGGCTCG**TTAAGTA**
GGAACGCCAGGCGGAGACAGAGCAGCAACCCCTGTGGCTTGAAGCAACGCGGGTAATACCACCCCTGCAGGTCCTTCGAGCAT
TATCTCGTCCGCTCCGTCCATTCCCACGTCTTCAAGGTTACATGGATCACCGTTGCCCCGACCGCCAGAGCCATATCTGGAA
TACCGGCTGCCGGCATGACAA

28>chr1:2810901-2813136

PP2465-PP2466-PP2467-PP2468-PP2469

thrS (threonyl tRNA synthetase)- infC (translation initiation factor IF-3)- rpml (50s ribosomal protein L35) -rpIT (50s ribosomal protein L20)- pheS (phenylalanyl tRNA synthetase subunit alpha)



394	-1	TGGCACGGAAACCGCT	11.85 dentro de la codificante
809	-1	TGGTACCGCGTCTGCA	11.24 dentro de la codificante
1653	-1	GGGCACGGCGTTGAT	8.71
1688	1	TGGCCTGAAAAAGGCT	7.10

ACAGCGCTGGCCGACGCCCTGAACGAATCCGGCCTTGAGTGGAATACCAGCCGGGCGAGGGTGCCTTCTACGGCCCCGAAAT
CGAGTTTACCCTGCGCGACTGCCTCGGCCGTAACCTGGCAGTGCGGTACCCTGCAGTACGACCCGAACCTGCCAGAGCGTCTGG
ATGCCAGCTATATCGCCGAAGATAACAGCCGAGTTCGCCCCGTTCATGCTGCACCGCGCCATCCTCGGTTTCGTTTCGAGCGCTTC
ATCGGCATGCTGATCGAGCACTACGCGGGCGTGTTCGCCGCGTGGCTGGCCCCAACCTCAGGCGGTGATCATGAATATCACCGA
CAAGCAGGCCGATTTTCGCCCTCGAGGTTGAGAAATCTCTGAACGGA**AGCGGTTTCCGTGCCA**AGTCGGACTTGAGAAATGAGA
AGATCGGCTTTAAAAATCCGCGAGCATACTTTGCTCAAGGTCCCGTACCTTTTGGTTATAGGGGACCGCGAAGTCGAAACGCAA
ACCGTCGCTGTGCGTACTCGCGAAGGCGCAGACCTGGGCTCCATGCCCGTCGCCCAATTTCGTTGAGTTGCTGACACAAGCGGT
TTCCCGGCGTGGT**CGCCAAGAATCGGAGTAA**TGACTATTAAAGCGTGAAATGAGAAACGATAAGCGTGCTGTACCGAAGGCCCC
GATCAACGAGAATATCTCGGCCCGCAGGTTTCGGTTAATTGGCGCAGACGGCGAGCGTTGGCATCGTCTCGATTGATGAAG
CGCTGCGTATCGCTGATGAAGCGAAGCTGGACCTGGTAGAAATCTC**TGCAGACGCGGTACCA**CCCGCTGCAAGGTTCGAGAC
TACGGTAAGCACCTCTTTCGAGAAAGAAAGCAGGCTAACGAAGCCAAGAAAAACCAGAAACAGATCCAGATCAAAGAAATCAA
GTTTCGTCCAGGGACGGAGGATGGGGATTACCAGGTAAAACTACGCAACCTGGTACGTTTTCCTTACCAGTGGGGACAAGGCCA
AGATCTCTCTGAGATTCCGTGGTTCGTGAGATGGCCACCAGGAGCTGGGCATGGAGCTGTTGAAGCGGGTCGAAGCCGACCTC
GCCGAATACGGCACCGTTGAGCAGCATCCGAAGATGGAAGGACGCCAGCTTATGATGGTCATCGCCCCCAAGAAAAAGAAGTA
ATCTCCCGGGCACGGCAGGCCTGATGATTATGTGTAATTTTATCGAATGCGGAGTTCCAACATGCCAAAAATGAAAACCAAGA
GCGGTGCTGCGAAGCGCTTCTTGAAGACAGCTTCGGGCTTCAAGCACAAAGCACGCTTTCAAGAGCCACATCCTGACCAAAATG
TCGACCAAGCGTAAGCGTCAACTGCGCGGTGCCAGCTTGTCTGCACCCGTCGACGTCGCAAAAGTCGAGCGCATGCTGCGCGT
TCGTTAATTCTGGTTAAGATAGAGGAAGTTACTCATGGCTCGTGTTAAGCGCGGCGTTATCGCTCGTAAGCGTCACAAAAAAA
TTCTGAAACTGGCTAAAGGTTACTACGTTGCACGTTTCGCGCGTATTCCGTGTAGCCAAGCAAGCGGTCATCAAGGCAGGCCAA
TACGCCTACCGCGACCGTCGCCAGAAAGCGTCAGTTCCGCGCACTGTGGATCGCTCGT**ATCAACGCCCGGTGCC**GCACCAA
CGGTCTGTCTACAGCCGTCTGATTGCT**TGGCCTGAAAAAGGCT**TCGATCGAAATCGACCGTAAGGTTCTGGCTGATCTGGCAG
TGAACGAAAAAGCGGCGTTTGTGCGATTGTCTGAGAAAGCTAAAGCCGTTCTGGCTTAAAGTACCCGCGACAATCACCCGGCGG
TGCTAGCGCTGCCGGGCATTGAACGTCATCGATAGGGGAAGAGCCTTCAAAGCTCTTCCCTATTTTCGTATCTGGAGTCTGT
ACATGGAAAACTGGATGCGCTGGTCTCCCAAGCCCTAGAGGCCGTGGAACGCGCTGAAGACATCAACGCCCTGGAACAGATC
CGGGTTAATTATCTCGGCAAGAAGGGCGAGCTGACCCAGGTGATGAAGACCTGGGCAACCTGCCAGCCGAAGAGCGGCCGAA
AGTCGGCGCGCTGATCAACGACGCCAAAGAGCGCGTCACCGTTGTGCTCAATGCCCGCAAGGCTGCCTTTGAAGAAGCCGAGC
TCAGCGCTCGCCTGGCTGCCGAATGCATTGACGTACCCCTGCCAGGTCGCGGCCAGGCCACCGGTGGCCTGCACCCG

29>chr1:5381400-5384141

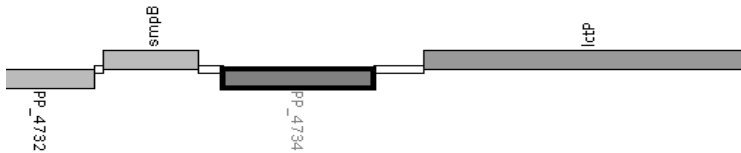
PP4732-PP4733-PP4734-PP4735

cyclase- smpB (SsrA binding protein)- GntR family transcriptional regulator- lctP (L-lactate transport)

-1 TGGCCAAGGGGCTGCT 9.9

-1 GGGCATCTGATGTGCT 7.4

Inverted repeat (palindrome)CCGGCCTCTTCGCGGGCAAGCCCGCTCCACAGGA



TAATCGAAGGACAGGTCCAGGCTGATCTTGCAGGCTTTTTTACCCAGCGGCTTGAACACCCAAACACCATGCAGCTGGGTGAA
 CGGCCCTTCTTCGAGGTTTCATTTTCGATGGACTGCCCCGGCACCAGCACGTTACGCGTCACGAAGTGCTGGCTCATGCCACCCT
 TGGCCACTTTCGAGCTTGGCACGCATGTGTGTATCGCTGGTTTTCGATCACCGTCGAGGCCGAGCACCACGGCAAAAACTCAGGG
 TAGCTGGCCACATCATTGACCAGATCGTAAAGCGCCTGGGCGGGGTATGGCAGCAGGGCGGAGCGTTGAATATGGGTAGTCAT
 CCAGGCGTCACTTCCAAGGCTGGGTGGCGGCGCTTCGCAGCGTGCCGAAAACAGGTTCTGTGCGTATGACAGGGTTTGTATTG
 TCCGGTATTTCATTCCAGTGGCTCAAGCACACCGAAATCCCATAGCGGACGACGCGCGGACTTGCCTATAATGCCGCCCCCTATG
 GCTAAGCAAAAAAACATCCGACCGGGACCATCGCGCAAAACAAGAAAGCGCGACACGATTACTTCATCGAACACAAGTTTCA
 GGCCGGGCTGGTCTGTCCGGCTGGGAAGTAAAAAGCCTGCGAGCCGGCAAGGCGCACCTGACTGACAGCTACGTGCTGCTCA
 AGGACGGTGAGGCCTGGCTGTTCGGCAGCCACATACCCCCGCTGACCACGGCCAGCACCCACGTTCATCGCCGACCCTACACGC
 ACCCGCAAGCTGCTGCTGAACAAGCGCGAGCTCGAGCGCGTGGAAGCGGCCGCTGGCGCAAAAAGGCTACACCTGTGTGGCTTT
 GGCGCTGTACTGGAGCAAGCACCTGATCAAGTGCGAAATCGCACTGGGCAAGGGCAAGAAGGAATTCGACAAGCGCGACACCA
 TGGCGCAACGCGATTCCAACCGCGAGCTGCAGCGGGCTGTGCGGAACAAGGGCAAGGAAGAGTAACTACTCTTCAACCTGTTT
 CGGCCTCTTCGCGGCAAGCCCCGCTCCACAGGAATGGCACCAGATTCAAGCCCGCGCCTATCCTGTGGGAGCGGGCTTGCC
 CGCGAAGAGGCCGGTACTGCCCATAAAAGCCTCAGCGCCGCTGCGCCGCTCTGCCCCGCGCCACCCGCTGGGCTTCTTTCGTGC
 GCCTCATGCAGCACCTCTTCGACATACAAAATGTGCCGGCTGGACACCTCCCGCGCATCTCCGCCCTGCCCTCGACAATCGC
 CAGGTACAGTTCCCGGTGTCTGGCTGATCAGCATGTCCCGGGTTTCGGTGCGCTGCTGGTACATGCCGCCGATGTTTGGTCA
 CGTTGCGCTTGAGCAGGTCCGAACAGCCCCCGGATGGTGTGTCAGCAACACCGCGTTATGACTGGCCTCGGCGATCGCCAGGTGG
 AAGCGCGCATCAGCCGCGCCCTCTTCCGCAACGGGTACCTCATCGACCCTGGCATAGCAGTCTGTCAGCGCATCGAAGGCCGC
 CTTCAACCGTGCCCGGTCCGGCTCGGTGGCACGCTGGGCAGCGTAATAGGCGCAGGACGCTCCAGGGTATGGCGGAACTCGA
 GCAGGTACGCTGCGCTTCGGCACTGTGCTCGAGCAGCTGCAGCAACGGGTGCTGAAGGTGGACCCCAACGACTCCGCCACA
 AAATTGCCCCCGCCTGACGGCTGACCAGCAGCCCCCTTGGCCAACAGCTTCTGGATCGCCTCACGCAGTGACGGGCGGGACAC
 ACCAACTGCTCGGCCAGGACGCGCTCGGCCGGCAGCCGCTGCCCCGAGGTGAGCGTGCCTTCCAGAATCATCCCTTCCAGCC
 GATCGACAATGTCTCGGACAGGCGCCGTTTGGCGTACCTGATCAAAAACCATCACATGCTCTCCACAAACCCCCGGCAAATTT
 CAGGGGGTGCTATTCTCGCCGATCCAGGCCACGCAAACACCCATCAAGCCGCGATTTTCCAGCACATCAGATGCCCCGCTCA
 TCGGTACGCGACCAAAGTTTTCACAGGACAAATTGACACACCCACGGCAGCGCTTTTAACCTAGCGTCCAGCCATTGTAAAT
 TGGTCTTACCAATTATCCAATGCCAGTGCCTGACCAACAACAATTAGGGGCCACCCCATATGCAAACCTGGCAACAACCTCTAT
 AGCCCGCTTGGTAGTCTTGGCCTGTCCGCACTGGCGGCGGTTCATCCCTATCGTGTCTTCTTCTTCCCTGGCCCTCGCCGTGTTCCG
 CCTCAAGGGCCACGTAGCGGGCAGCATCACCCCTCGCGCTGTCGATCCTGGTGGCGATCTTCGCCTTCCAGATGCCTGTGACA
 TGGCCCTCGCCGCCCGCGGTTACGGCTTCCCTCATATGGCCTCTGGCCAATTGCTTGGATCATCGTTGCCGCGGTGTTTCTGTAC
 AAATCACGGTCAAGAGCGGCCAGTTCGAAGTGATCCGCACTCGGTGCTGTGATTACCGACGACCAGCGCCTGCAAGTGCT
 GTTGATCGGCTTCTGCTTCGGCGCCTTCCCTCGAAGGTGCGGCAGGCTTTGGCGCACCGGTGGCCATCACTGCCGCACTGCTGG
 TGGGCTGGGCTTCAACCCGCTGTACGCTGCCGGCTGTGCTGATCGCCAACACCGCGCCAGTGGCCTTCGGCGCCCTGGGC
 ATCCCGATCATCGTGGCCGGCCAGGTCACCGGTATCGACGCCCTCCACATCGGCGCCATGACCGGCCGCCAGCTGCCGCTGCT
 GT

30>chr1:5260042-5262100

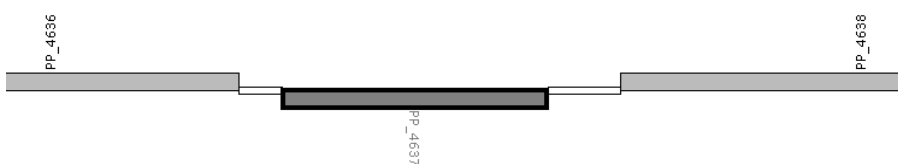
PP4636-PP4637-PP4638

acetyl-CoA acetyltransferase- 5-methyltetrahydropteroyltriglutamate- methylenetetrahydrofolate reductase domain-containing protein

TGGTGACCCTGTGCA 8.4
 TGCACGGCCAGTTCCA

AGCAACGAACAAGCCG

ATCGACGTGCAGGCCA



Inverted repeat (palindrome) AACCCGCTCCTACG

ACGCTGAAATCACCCCCATCGTGCTGCCGAGAAAAAGGGCGAGCCCAAGGTTTTTGGCCGTGACGAGCAACCACGCCCGGAC
 ACCACCGCCGAGTCCCTGGCCAAACTGCGCCCGGCTTCAAGAAGGACGGCAGCGTCACCGCAGGCAATGCCTCCAGCCTGAA
 CGACGGCGCCGCCCGCTGCTTTTGTATGAGCGCAGCGAAGGCCGAGGCGTTGGGCTGCCGGTGTGCGGAAGATCGCCGCCT
 ACGCCAGTGCCGGGGTAGACCCCGCATCATGGGCATTGGTCCGGTTTTCGGCGACCCAGCGTTGCCTGGACAAGGCCGGTTGG

CAACTGGCCGAACCTGGACCTGATCGAAGCCAACGAAGCCTTTGCCGCCAGGCGCTGGCCGTGGGCAATGCGCTGGCATGGGA
 TGCCGCGCGGGTTAACGTCAATGGAGGAGCGATTGCCCTGGGCCACCCGATTGGTGTCTCCGGGTGCAGGGTGC **TGGTGACCC**
TGTTGCACGAGATGATCAAACGGGATGTCAAGAAAGGCCTGGCGACCTTGTGCATTGGTGGTGACAAGGGGTGGCGCTGGCC
 ATCGAGCGCTGATTGATTCAGCAGGCCCCGGCCTCTTCGCGGGTGAACCCGCTCCTACGCTGATCTGTGGCGGACACACATCG
 GTGATTGGGCGCACGCCCTCGTAGGAGCGGGTTTACCCGCGAAAGGGCCGGCACAGGCAGCAACCGTTCAAGCCGCGACTCGG
 TCCTGTCTCCAGCGACGCGGCCAGCACCGCCACTTCCTGGCACTTC **TGCACGGCCAGTTCCA**CTGGAATCTCC **AGCAACGAACA**
AGCCGGCGCCAACCACAGCCGCTCACCAGGCGTTTCATGGGCTTCGTGCAGCAGCCCCAGGGTCTTGCCCAAATCACAAGGCG
 AGGCGTTGCGACCGTCGACCAGGCCAGCGACAGTACCTTGTAGGCCGGCAGGCGATCGAGAATGGTCTGGTACTGCTCGGGC
 GCCTGAACCAG **ATCGACGTGCAGGCCA**TCAACCGGCAGGTTGGCGGCCAGGCCAGGTTGCCTTCAGGCCACCGAAGTACGT
 GCGCATCAGCTTCTTCAACGGTGC GCGTTGAAGGATGTTGTAGACGCGTTTCATAGGCGTTTTTCCAGTCTTGGGGCAGCGCCT
 GGGCGAGGATGGGTTTCATCGATCTGCACCCATTCAACGCCAGGGCGGCCAGGCGGTTGAGGAGCTGGTCATACACAGGCAGC
 AGGCGGTCAAGCAGCTCCAGCTTGTCTGAAGTACC GCCCAGGGTCTGGCCCTGCCACAGGTAGGTCAAAGGGCCGATCACTAC
 CGGCTTCACTGCATGACCCAGAGCCTTGGCGTGTCTCCACTTCTTCGAACAGTGGTTCCAGTTTCCAGTTTCCAGAACGAACGGCTGATCGC
 CTGCGCTAAGCACGTGGCTGTCCCAGGCGAAGTCGCCGACCGGCAGCAGCTCGATGCCAGCGTCTTTCTGCACCTGCCAGTGG
 CGGGCACGCAGCTCGCGGTCACGGCCGATGTGTGGAAGGCCAGGTTATGTGCCAGTGCCATGTCTTGTCCCTTCAGCATGCT
 TGAATGAATGAGGGGATTCTCCGGCTGGCGGAGTATTGAGACAAACTCATTAATTTGAGATGAACCCAAGAAATCTTCATGA
 TCATGCTGTTCATGGTCTTCGCGCCCCATGTCTCATTTCAGATCACCACCTTGCGCATCCGGACATGACCCGGCTCGCCTTCTGC
 CGCACAATGCCACCCTGACCACACCAGGTGCCCGGCCAATATGAGCCTGCTGAAAACCGCCCTGCGCGAACAGAACTTCGTCT
 GCGTAATGGAGTTTCGTCCCCAAGCCTTCCGCGAAGCGCTTTGCCGCCATGGAAGCGATCTGGCCCCGTGCGCACCTGTGCGGC
 TGGCCCATGACCGTGGCCATCGGTGATCGTGTGCGGCAGCCCGCTGGACATGTCACCGCTGGACGCCCTCGCCTCGTTTCAGCAA
 CCCGGTGCCTGCCCTGCCGATTTTTCAGGCAAGGATCGCGAACGCCACCACCTGCTCGCCCAACT

31>chr1:3577897-3579877 ver pico 75

PP3158-PP3159

hypothetical protein- benR (AraC family transcriptional regulator)

Inverted repeat (palindrome) GCTGCAACTGGCATTTTTGCCAGTTGCAGC



199

AGGCAACATGGATGCT

7.34

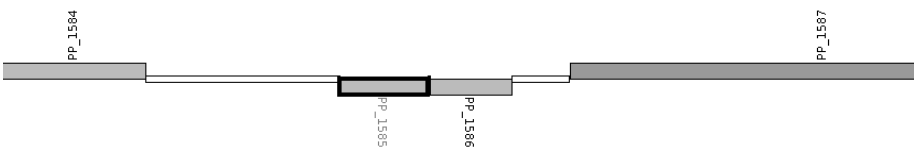
CTGCCGCAACTGGGCAACCGCCGTGACCTGGCGGCATTGAGCTACGCCCTTAGCCCGGAGTTTCGCGGGGATCGGGTTCGGCGC
 CTTTCATCTACGCCATCGGCAGCATGCTGATCACC CGCATGGCGGGCGTACCGAGTTCTACATGACCGATACCATCGACCCCC
 TGTTTCGTCAACAACGCCGCGCGCAATATCGAGA **AGGCAACATGGATGCT**CAGCCAGCGGCAAGATGCCAATGGGGTGTGCTG
 CTGTTCTCGAACGAAATCTCGGAGGAGGGCAGCAACCTGAGTTTTCGCCGTTGAGTTTCGGCAAGATCGTCGCGCGGCTGGACTT
 GTTGGCCGAGTTGCTGGATGAACGTTATCGGCGCATAGGCTTGAATTACGCGCAGAGCCTGTGCTGATGAACCTCTGCGCG
TGCAGTAAGAGGCCTCTGCCGCACGCCCCTTTGCGAAATGCCCATACATGAATGAGGATTGAGTTGATGAGTGTTCATGAGCGA
 ATCAACGTTTCGTGCGGCTGCAACTGGCATTTTTGCCAGTTGCAGCGAGTGTATGACAGCCTAGAATTCAAGGGAAATGGTGT
 TCTCTAAGGTCATTAATCGTGAACGTTTCGCAAGCGTACACGCCCTACGGCGCTATTTGGGGTGTATGGCCATTGCTCCGTGTT
 GAAGTACAATGGTGATCATTTAGACGATCTCGTTAACGGGTATCATTTAGGGGTAGGTAAACGATTGTATCTGCCAGCTTTGA
 TCGCTTCGCATCGCCGATGCCTTGAGCCCCGTTTTTGAAGGTGATGTTATCAACAGCTATTCTTACTGCGCCGGAGATCCTGTA
 AATTACTCAGACCTACAGGGCAGGCCCGAGGTGCGCGAAGCTAGTAAGAAAATCATCACAGACAGCCCCGTGAAACCCTC
 ATCTGGCTCATCCAGTAATGTTCCCGTCAAGAAACCAGAGCAGCAAAAGATCACGTTCAAAC TGGAGGATCGTGCATTAAACA
 ACAAATATTTAATAATGAGGGATAAAAAAGATACCGCCGCAGGATATAATTACGTCAGCCCTGAGTTAAGGCCTTTTGTAGAA
 CGTAATTCGAAGTTGACTGTGCTTGTCTGCTTGGAGGGGTGCGCTTCATCTAGCAGAAATATAATTACCGGAGGATCTGGAAGT
 GCTTGATTTTATCAAGCGTGTGTCGCCCCCTCTGTGACGGGGGTGGTGTAGATGATTGTTTGTGTTGCTGCTTATGCTAGTA
 ATATTGCCTCTGGCAGCGCTAGAATTCCTGAGTTGATGAAAGTTACTGCTTGGATTAGGGCTGAACGTGAAATGTTTGGTGGA
 TAGTAATTTTCGAAATTTGCGGCGACAGGTTTCGCATCAATCTCGAGCAACCTTATTTTCGCCGCTTGGGAGCTAAGCATTT
 GAAGTGTTCAACTTTCTACGTAAAGGGGCGTATTAGCTGTTAGGCCATAATTAGTGGACCGCTTCTATATACTGCACGACCG
 AGACAAGAGCATCCCTGTCAATGAGGGGCGTATGTTGTGCGGATGGTCGGCACTATCACCCGCCATGAGAAGTGCAAGCGAGT
 TTGTCCAATGGTCTGCACCTGGTGTAGAGCTGATATGCGCCAAATTTACCCGATCGGCATTGACGAGATTATTGAACACGCC
 AGCCCGTACCGCCGGCACCTGGAGCGCTTGGTCCGCCCTATGTGCAGGCCCGCAAGTACCGGAAGATACTGTTTCGATAAAC
 GAACACACATGACTCCGCAGCTGTCCGCTATCCGCCAGCCAATCCCATCGTTGCATTGCCCAACCCCCGCCTTTTGTGTGTA
 GTGTCCCTTATCCGCCGGCTGTGCGCTGCCCTGCGACGCGTGCAGCCCGATAGAATGACCGTGATGACCGCAACCACAGC
 CCACAAGGCGGTAGGGCGCGGCGACCAGAACAAATAACGATACCGAGTGCCTTGCCT **ATGGAAAGCCGCGCTG**

32>chr1:1776833-1778617

PP1584-PP1585-PP1586-PP1587

hypothetical protein- antidote protein- killer protein- Na⁺/H⁺ antiporter

http://string-db.org/version 9 05/newstring.cgi/show_network_section.pl?all_channels_on=1&identifier=160488.PP 1587



Rho- Independent terminator cadena -(GGCGCAATTCCGATGCGCC)

1	GGGCACGCGACTCGCA	10.35
1	TGGCGTGGCCGACGCT	7.59

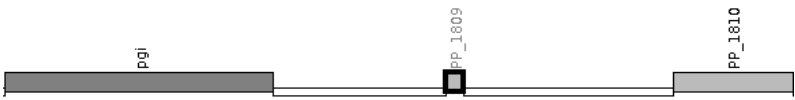
ATCCCGAATAGCAGGGGAGCAGTGCCGGCGAGAGTACGATGCGCTTCTGCCATCCGGCTGAGTTGGATTGCTCGGCGCCGGTT
GTTATGAGTAGGATACTGTTTTTATATACAGTAATGGTGAGCTATGGCCATCCTACTCCCTCCAGCGTGGGTGCGTGAACCTG
ATGATCGTTTTGCGCTGGTGACCGATCCGGACGGCCGCTCGGCTGTGCTGGCAGAGATGGCGAAGGCGGCTCACCGCCGGCGG
GAGATCGACGCCGGTGAGCTATGCGAGATGCTTGAGCTGGCAGAAGCCGCACGGCTATGGGCGCTGCTAGAGCATGAGGAAGC
CTGGGATCTCGAGTTGTTTCGGTTTGAGAAATTTTCAGATCAAGATCACGGACGGATCTTGGTCGGCAGAACGCCTGGGAAGG
ATATCGTTGCGTAAATCTTCCCCAAAATGCATCCGTAAACACCTGATTCTATTGGGGTCAAACGAACAAAAAAGGCGCAATT
CCGATGCGCCATATTTGCTTTAAGGCATTGATTTAACTGGGCTTTAGTCGGTTTAACTTGGCGTCCCAGGCTTTGATGCCGTA
GAGCGTGTAGGTCATTGTGTACATTGGGGTTGCAAGTAGCCCCAATCTCTCCGTTTTTTCGATGTCAGTCGCGGGATTATGCGG
GAACGATCCTCGCGGCCACCGCCCGTGGCGCCCCCTGTTTATTGATCAGGATGTGTTCAGCGACCCAGACGCTGGACCGACCC
GATGATCTCATCGCCGTGTTGCTGTTCCGGCTGTGCGCAGATCGAAGGCCGCTCTGCAGGTTGAGCCAGAACTCAGGGGTGGTGT
CCAGGCAGATGGACAGGCGCAGTGCCATGTCGGCGGAAACACCGCCCCGTTTCGCGCAGGATGTTGTTGACGGTTGGCGTTGCT
ACACCCAACGCCCTGGCCAGAGCCGCGGCGCTGAAGCCCATTTCCTTCTGGAACCTCTCCCGCAGGATTTACCCGGATGGAT
TGGACGCATACCGTTCTTGAGCATGATGCACCTCAGTGGTAATCGACAATTTCAACGTTAACTGGCCCCGTGCTCTGTCCAGGT
GAAGCACAACCGCCATTGGTCATTTACACGGATACTGTGCTGGTCGGCGCGGTTGCCGCTCAGTGACTCGAGGCGATTGCCAG
GTGGCGACCTAAGGTCTCGCAACTCTGTTGCGGCATCGAGCATGGCCAGCTTGGCGCTCCGCGACTGACTTGATATCTGACCCG
CGCCGTGTCTTTCCCGTTGTGAAGAGCGCTTCCGTGTGCGCACAGCTAAAGCTTCGAATCATGAGCTGAATGCTTAACGTTAT
TCGTTAATTTTCGATTATACGACGGGATCGCTGTAGTTCAAGTCTTCAATAACGGGCACGCGACTCGCAAGCTCCGGTCACATC
TGCTGGGTATCATCATGTTTACATATTCCCCCGTCACCTGCGACTATCGTGCAGCGCCCCGAACCGCCGGTCGCCGCTAACAT
ATTGTTTCCAATGGCGATGTTTTCGCCCTTGCTATCGTTTTCTGGTTTCAAAAGGAAGCTTTCCCGGATGCAGTCCGCTTACCCGT
TCTCATCTGCTGACGCTGGTCAGCCTGTGCAAGCTGGTCGGCCGTGTGATCCCACTGCCATTGCCGCTGGTACAGATCCCGT
CCGGTGCCTTGCCTGGCGTGGCCGACGCTGGCGCATCCCCAAGCGTGAGTT

7.6

**33>chr1:2033909-2037167

PP1808-PP1809-PP1810

pgi (glucose-6-phosphate isomerase- hypothetical protein- hypothetical protein



Inverted repeat (palindrome) TCTTTCACAA TGTGAAAGA

965	1	TGGCATCCAGATCGCA	12.07
1478	1	TGGCTTGGTTATTGCC	9.31
2853	-1	TGGCATGGATAAGGCT	10.65
3178	1	TGGCACCGGTGGTGT	7.85

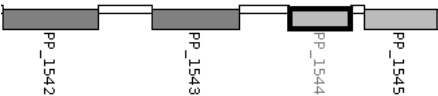
AGGTGATCCCGGTAACCGCCGAGCAACACATTGGTGGTCGAGCGCATCAGCCCGCGCCGGCTGGGTGCGCTGGTGCCATG
TACGAGCACAAGGTGTTTCGTACAGAGCGTTATCTGGGGTATCAACGCCCTTCGATCAGTGGGGCGTCGAGCTGGGCAAGGAAC
GGGCAAGAGCGTTTACCAGCGCTTGGTCGGTAGCCTGGAAGACAGCGCCGAAGACGGTTCCACCCAAGGCCGTGATCAATTACT
TTCGTGGTAAACACCGTGGCTGACCTGCTTGATACTGGCCCGCGGGAGGAGCGTCCGAGCGGAGCTGGTGGTCGCCGAAA
CACTAGCGCATCATGGCGGTGAATAGCAGGCCGATTTTCGACGCAGAGGTGGTACAGTCAACAGGGTAGGTAATTTCGAGATT
TTGTCATCCATCCAAGTGCTAATGCTCTTGGATGGGGCTCAGTCCCAGTTGTGACTAGAGGATCTGAATGTACAATGCACTTC
TGCTAATCGCTGCAATTGCCCTTACCGGATGCGCTGCGTCTCTCGGAAATGAAGACGGTGAGAGGTAAGACAGGCGTTACATC
AACTGTTTACGGCCTATCTTCGTATGGGACCGCTGTTTACAGAGCTGAGATCTCTGTAGTACACGAGGATACCGCGTTGT
AGCGCGGTCCGGTGATACCGAGGAGGAGGCTGGGGATTATTTGTTTCGGTATTAATCCTGCCGGCTTCACTAGCCGAAGTATGA
TAGTCATCTGTAAGTGATGATCAGATCATATTCCTAGGCGCTCGGCGATACCACAGCGCTCGGTCAATTTTCGTGACCCGCTGG
CTCCAAAGCATGCGCAAAGTGGGTACACGGCTTGCCTATTTTCGACTAGCTAAGGGCCCCCTGCTCGTGTCCGCCTGCCGAGAC
CCCTCTGAGGCTGGCTGAGCAGTTAGATCCTGTGCTGTGCCGGGTGAAGTTGGGCATCCAGATCGCAAGCTGGCGCTGACAC
GCGGTGCGATCTTGGTAGAAATTTCTGTAACAGTGTCAAATGGCCAGTAAACAAAGACCTTTTTCGCTAAAGCGTGATATTCA
CAATCCTATGTTTACGGCATCACCTATAGACAGCCAGTGAACCTCACCTTTCTATCAAGAAAGTCAGAGGTGACCGATGTA

TTAGTCGATTCCGCGACACAGGACAGGCCACAGTTACCTTCTACCGTTGGGCTGGTTGGTGATGCTCTCGGGGATGT
GCCGGGGGAGCGCTCCCTTACCACAGACTTTTCTATATCTTGCTGGCTGCGTCAACGCTTTGGGCTTTGCTGCTGCAGCTGG
AGTGCTTTAAAGGCTGATGAGCAATCCTTCGTCATATGCGGTGCCGACTGAAGGCGCCGTCAAGAAGGTGATGATGGGCCAAA
TGATTAGCCGCATGAGTTTGTCTGCGCTACCTCGTTGAGGCAGGTGGAGCCAGCTTGTAAAAGCCA
CGAGCGTTTCAAGTCCATGATGTCAGGCGAGGGGGCTACTACCCCTGAATGAGCCGTCGCTTTGCACATCGATCAGGGCCCCGGG
GCATCATAGCTGGAGTTTCCATAGGATGCTCAGGGCGCCGCCAGGTGAGCGCTGCAATTTCTGCCGCCTACACTTTTCGAAGA
TGAGTGTAAGCGGCGCTTGGCCGCGCTTAGGGGCTATAACGAACGTCATATTTAGTGAGCGATGTCCATGGGGCCTGACGAG
GTGGGTTCGATAATCGCGATGTCGACATGGTAATTGGCAAACTCGGTGGATCGGGCATCCGTACGCAATGTGGCACTCAAGAC
GACCTCTTGCTGACGGTTGATATCGGTCAAGAAATTTCTGAAATTTGGTGCTCTTTTACAATGATCAGGACCACGCAGTTTGCAC
CTTGTGAAAGAAGGTCTTTTCAATTTCTGCTGCGCTGAACGCTACTGCCACATTACGCTCGTAACCTCTCCACCAGATCGCGAGTC
GATGGCGTGTCCATAGTCAAAGCCCCAGTGAGTCCGCGGCGATTGTCATCTTGACTGGGTTAGAACATGACTACACATTTG
CAAAAAAGCGACTCGTACCACTCCACAGCCTTCTCCCCGGGTCGAAAGGGCATCATACATACAGCAGATCGCGTCAGGTTGC
CAGCCTTACGGGATAACTGGCGTTGTGCCGCTACGCGCAGGGGGGCTGCGGCTGGTTGAGGGCATGCTGAAGCAATATAGGGA
AGGATGAGGGGCTACTTGTCTAGTTTCATGATTCCCTTGTATGAGGTTACGCAGGGCGTGAATATTTAAGTGAGGCCACTCACG
TAGGTAACCGATGAGGTCAAAAAGGAGCGCAGCTGAGTACCAAATTTTATTTGTTTACCCTGAGCGGCATTGTACGGTTCTCTT
TTGGCGCGTAAGAGGATGTATCGCTTTCTCAGATCAAGTCTGTAACCCACGCGATAGTTTTCACGCCATACCAGCCTTAAGT
CTTCTGAGGCTATTAAGGGAGATCCACTGATTAACTGCGTGATGGCTGATAGGGCTGCCAGGCAGGTCCACTTCCGAAGGGG
CGCAGCGCAATGCGAGTGGGCAACAGCCGACATTGTCTTGC CGCGCCGCTGGGTTTATTCACTAGAGGGAGCGTAGAGGGC
GCAGTGTGGCATGCAACATTGGTGGAGTATTTGTGTTTTCCAGCAAAACCGAAAAATATCGCACTTGCCAGGACTCACTAGC
CTTCTTGGCTTGACTTGTATCCGCACCAGAGCATCCGCCCGATGAACATCCCTAAGTTCAGAAAGTTGTTTATGTCTGATATT
TCAGCAGCGCAGCCAGCCTTATCCATGCCATAGCCATAGCCTTGCCTGATCGCTGCGCTGATCGCCGCCAGTGCGATGAT
CATTTGCCCATATGACCTCGGATGTAAAAAACCAAGCAAGTGCCTGCTGCGTGAATCGCTGCGCTGATCGCCGCCAGTGCGATGAT
ACGAGTTCGACGTCAGGCCAGGCTGGAGATCGAGCAACTCATTGAGCAGAACGATGCGCTCAGGGCCGAACCTGGAGCGCGAG
AGGGCCGAGCGGTTGAAGCTGGAGGCCAGCCTGAAGCCAGAGCGCTGACGCCGAGGCGCATGAGGCGTTCAAGGCATTGGC
GGGCGAGCTGAAGGCTAAGACGCTGGCACCAGGTGGTGTGCTGAATATCCACAAAGATGACAAGGAAGCCGTGCGCTTTGCCA
AGGAAATTGCCGTTGCGCTGA

34>chr1:174412-1746781

PP1542-PP1543-PP1544-PP1545

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein



Inverted repeat (palindrome) CTCTCGGCAT ATGCCGAGAG

231	-1	AGGCAAGCAGTTTGC	10.00
446	1	TGGCTTTCTCCATGCA	8.53
494	1	TGGCAATTTAATGGCA	9.59

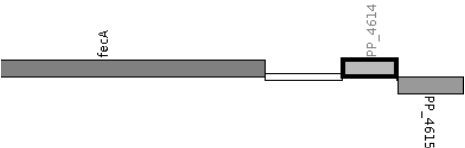
GCGAAACGGGTAGGCCGCGATGTTTCAAGTAGGCGCTACCGCGTGGGTAGCGGACCATCCGGTATTTCGTAGTTGCCCCAGAT
GCCGCGCTGCTGGATCTGCGGCTGGTTGATCCCCAGGAAGTGGGCGAATCCGTCGTAGCACTCGCACTCATCGAGGTAGGCAT
CGAAGTGGTTTGTCTTTCGCGGAGGTGGCGGTGGTGGCAGCTTGGAAAGCGCAAAGTGGCTTTCAGGCGTTGCCCGGTAC
ACCAGTCATCAGCATCACAGAAAGGCCGCGCCTTGGCGGAGTTCATCAGGCTGCTTCTACCAGTACATCCAAGTTGTTGGC
GTCGTCATAGCCTGGGCTGGTGAGGAAATGGTTTCTGTTGCGGTACGGCATCCCGGGTTTCACTCCCAAGGTGTGCCAGAGCA
AGTCGAGCTGCTTCTCGGTGGCTTCGATCATGGCTTTCTCCATGCAAGCACCGGCTTGGCCGGTGTGTGCTGCTGATAGTGGCA
ATTTAATGGCAATTTGGGTTATTGATTGTAATACCAAGTCAACGAGATGAATACCCGATGGACCGCGAGCCAACAAACCAGGAAA
TCGCAGCAGCTCTCGGCATTGATGAGGATCAGGTTGATAAGTACCGTCAGGAGGCTGTGCTGCTGGGCGACGGATCTTGGCTT
GTCCACTTTTCTACGACATGCCGAGAGAGCTTCGGCACAGCTTACCCGTTAGCTTTACGGCGATTGTTGCGTGCGTTGAATC
TTGTGTTGACGGGCGCGCAGTTCGACTGAGGCTGGCTGGCAGCGAAGGACAGTCAGGAGGCTATCGGGAAGTGTGGCAAGGG
CCTGCTGAACTGCTGCGATGATGCGGCGAGGTTAGTCCCAGTCAGGTTTGCCTCCATGGCGTCGGCCGGCAGGTTCCACCAG
TCGTCACCGAATACGCGGTGCAGGAAGTTCGCGGTGGGCGCCGCCGCACTCATCGAGCGAGCTGGTGTGTGCAACATCCTCAGC
CTCGTCGAGCAGGCTTCGGGCATCTTCTGCGTCCAGATCCCGGTACGCGCGATTTGCACGATCACCTTCCGCGCTTTGTGCG
CCAGCGCTTCAGCGCTGAACCGGCGAGAACTCAGCGACCGGTGCAAGTAGCCGATGATGTAGGCGTCGTGCAGCTTGCAGAAG
AACTGGCCGATGGTCAGGCCATCCACATACCGCCCCAGTAGGCGTGCCAGGTTTGTGCTAGCAGCTGACGGTGATCTTGCC
CTTGCAAGGCTCAAAGTCTTCGAGGTAGACGCTGATCGGGTCCAGGCTTTCGGCGCCAGTGATCAGCAGCTTGGTGACAGTGG
AGGTCTCGACTTGCATGCGGTAATCCATGTCATGCGCCGCCCTCCGTGGCCGGATGCGGCATGGTGGCTGTTTAAATCACAG
CATTTGTGGCCATTTGCTTGCCTGCGGTGATTTAGTTGGGGCTCAATAACAGAAGGAGGTATGTATGGCTTGGTATCACCGCGACAGTG
ATGTTAAGAAGAGCACTTCGATGCTTACAAGCGGGAGTTCAAACCCGGGAGAGAAGGCGGAATGGCCAGGTATTTATCACTGC
ATAAATGCGGCGATGAAATGCAATCGCTGGCGGCCACACTTCTCTGCCAAATCATTTATCAGCAGCAGGATGAGGAGCC
GATCATCTGGCGCATGTCGGTGTATGCCGAACAGAAAGTAAACGGGTTGATCACTTCGCACCCCTGGGTCTCGCTTAAAGCTC
TGCCATGCTGGCCGCTTCAAGTTCACGCGCTAGTTTGGCGATATGTAAGAAAGCTGGCGCGTCAGGTCGTTCAAGGCGACGCG
CCCGCTCTTCAGGATCCTGCGCGATCCATGACAGCGCCAGGTCCTGCCAGAGTTCTTGCACCTGGTTCGTAGCCGTGCCGCTCG
ATCTCCGCGAGCCATGGCAGCCTTGATCCCTTCCGGCATGTTGAAGAAAACCTTCTCGATCCCCAGTTTTCGCGGCTGCCTTCTT
CTGGCGGTCTCGGTAGTCCGCTGAGTGTCTTCGCGGCTCCGGTCTTCTTCTCGGCCATGACCGATACCTCCCAAGCCGCTTGGC

GGCAGATTGATGTGTTGCTGGCGCCGGCCGTGCCGGACGCGCGCGGTGATGCGTTTCATGCTGCTTTCTGCTGATTCCAGGCG
CCGACAGCGGCAAAGATCTTGGCGGCCTCTGCTTCGTTCGAGCGTTATGTCGGTGGGGATGGCGATCCAGCCGGCCGCGACCAG
GTGATTAGGGTTGGCCGTGGCCCGCAGGTTCGGTGTAGGTAGACTCGATCACATCTGTCAGGTGGTCGGCCCTGTAGTTTCCCT
CGGCGCGGACTTCGATCGACTTGTGATACCGCTCGCCGAGCTCCG

35>chr1:5236599-5238283

PP4613-PP4614-PP4615

fecA (outer membrane iron(III) dicitrate receptor) - hypothetical protein- phosphate-starvation-inducible E



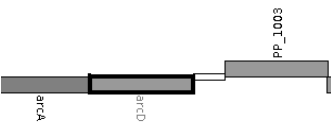
148	-1	CGGCGTACTGGCTGCT	7.12	orientacion correcta
416	1	TAGCCCCCTTTTGCA	7.55	orientacion incorrecta
890	-1	AGGCGCCGCGCTTGCT	9.34	orientacion incorrecta

GTCGACGCCACCATCCGTGAGGACGGGCCGAACAAAGGCAACCAGGTGCCGTTCTCGTCGCGCCACAAGGGCAACCTGGGCGT
GGGCTACACCGAGGGCCCTTGGCAGCTGAACCTGGACGGCAGCTTCCAGAGCAGCCAGTACGCCCACAACGCCAACACCAGCA
CCGAAAGCGCCGATGGAAGCACCGGGCGCATTCGGGGCTACATGCTGGTCAGCACCCGTGCCGGGTACGACTTTGGCCCGCAG
TTGTGCGAACCTCAAGGTGGCAGTCCGGGTGAAGAACCTGTTCAACCGCGAGTACTACACGCGTTCTTACGATGACAACAACA
GGGCAAGTATGTGGGTGAACCACGTACCTTGTATTTGCAGACGTCCGTGGAATTCGACCGGTAGCAAATGGGGGCGCTTTG
TAGCCCCCTTTTGCAACAAGAAATTTATTTTCAAAAAGGGCTTGAATTCATTCGCGAGTTGCCTGACCTTAGAGTCAAGAGG
CGCAGAAATTCGAAGGGTCTCAAGGGCTAGGCGCGTCTCCATGCGAGCAAGCTGAATAAGGATTGAATCATGCAAATCCAGG
TCAACAGCAGCAACGATTTTCATGGTAACGCCCGGCTCGACCAGTGGGTCCGCGAGCACACTGCAGAACTCGCTGGAACGTTAC
GAAGAAGACCTCACCCGCATCGAGGTTACCTGCGCGACGAGAAGCGGCTCAAGCCCGGACCGCATGACAAACGCTGCCAGAT
GGAGGCTCGCCGAAAGGCCACCAACCGATTTCCGTGACCCACACCGCCAGTTTCGCTGGACCAGGCAGTCGACGGTGCCGCCA
CCAAGCTCAATCACGCGCTGGAGCACTTCTACGGCAAGCTGCGCAGCAAGCGCGCGCTTGGAAGTGAAGTACCCGACGCC
TGATCGGCAATGCAAAACGCCCGGCTTGAGCCGGGCGTTTTTCGTTTGTGCCGATCAATGGCGCTGAACCAACATGCGAACGT
CCGGTCAACCTCTGCATCACTCACCGCAGAAGCAAGACCATGAACAACCCATTCGAACGAATCAGTGCTGCATTGCCCCCGA
ATACCGGGTGAACCTGAGCATTGCCAACCTCGACGGCAGCATCATGCTGACCTGTCCGACGACGCCGGCGTGGTCGCCAAGC
GCCTCATCACCCCGGCCAACGCAATGACCCGGTGCGCTGCAACGGGTGATCGACAGCATCCGCCTGGGCCTTGCGATCGAA
CTCAGCCAGAACCCCTGCAAGTGCTGGCCGCGCTGACCCGTGACGCCGCCACGAGCCGCGCCATTTTGTGCAATTGAGG
GCTACTTGCCCTCCTCCACTGCCTTGCCGTTGGCGTCCAGCACCTTGGTCGAGGGGTAGCGGTACGAAGCGTAGCGCACCACC
AGGATCGAGAAGCCAGCAACAGGATGCCGCCGACAGGTACAGCAGCCCTTCATCGGGTGCCTTGTGGTGCGAACATCGCC
GATCAGCAGGCGAGTGAGCGCGGTGATTGCCACGTACAGCAGGAAGCGGATCGGCATGTGGTTGGTCTTGAAGTAGATCCCCA
CCATCGCCCCCAGCTCCAGGTAGATGAACAACAGCAGGATGTATCGACACTGATCCCGCCCTTGCCGAGCATGTCCAGGAAC
GTCACCACCGCCGCGTAGGCGGTG

36>chr1:1140565-1143298

PP1001-PP1002-PP1003

arcA (arginine deiminase)- arcD (arginine/ornithine antiporter)- arginine/ornithine antiporter



485	-1	TGGCGCCCTGGTGGCA	7.87
843	-1	TGGTGCAGATCTTTCT	8.24
1026	1	TGGCCGACCACATGCT	8.99
1832	-1	CGGCGCGTTAGTTGCA	10.99

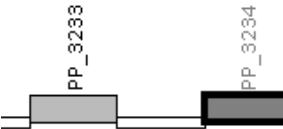
GCGGCAGGTCTTGGCCCGCCACGCCGCCGATCAGGAATTCGGCCAGGTGGCGTGGCTCCAGGCCTTCGAGCCAGCTACGCACT
TCGTTGGTCAGGCCTACGCCGACGGTGTACAGGGGTGATCTTGGCGTTCGAGGATCCACTTGAGCGCCTCTTTGTTCTGCACGAT
ATCGGTCAGCAGGTTGTGCATCTCCAGCACATCCACGCCACGCTCGCGCATCTTGGTGACGAAGTCGAAATGGTCACGCTTGG
CCTGGTCGACCCAGATCACGTTCGTCGAACAGCAGTTTCGTACAGTTGCTCGGCGTCAGGCGCTTGTGCGCCAGGCCCCGGGGCG
CAAACCATCACTTTGCGCAGTTTGCCGGCTTCGGAGTGGACACCGTACTTCTGTTTTTTCAGCGGACATGGTTTTATTCTCCA
ATTGATCGAAGACGTGGGTCAAAGGGTCAGGAAGCCGTCATACAGGCCATAGGCTGCCACAGGGGCGCCAATGACCACGGCTG
CGAAGATCAGTTTTCACGTTGGTGAAGACCGGTTTGCCACCTCACGCTTGGCCTTGGCGAACAGGATGGCGCCAGGTGCG
TAGAGCAGGGCAGAGAGCAGCAGGTATTTACGCCGCCGCGGTACAGCAGCCAGATGGCGTACAACAGGGCGATGCCACCGAT
GATCAGGTCTTCTTTCGTTTCGGCCAGGGCTTGTTCGTAGGTTTTCGCTGCGCAGTGCCAGCAGGAACGCATAGGCTGCCGACC
ACAGGTAGGGCACCAGGATCATCGAGGTGGCGAGGTAGATCAGAGACAGGTAGGTGCTGCTTGAGAACAGCGTGATGACCAGA
AAGATCTGCACCAATGGCGTTGGTCAGCCACAGGGCGTTGGCCGGTACCTGTTTGGCGTTCTCGCGGCGCAGGAACCTCCGGCAT

GGTGTGGTCTTGGCTGCGGCGAACATGATCTCGGCGCACAGCAGCACCCACGACAGCAGCGCCCCGAGCAGCGAGATGACCA
GGCCGACGCTGATCAGCACCCGCCCCCAGTGGCCGACCACATGCTCCAGCACGGCAGCCATCGACGGGTTCGACAGTTGGCC
AGTTCGGCTGAGTCATGATGCCAGCGACAGCACGTTGACCAACACCAGGAACAGCAGCACGGTCACGAAGCCGATCACCCT
TGCCCTTGCCACGTCGGTGCCTTTTCCGCCCCGCGCCGAGAAGATGCTCGCGCCCTCGATGCCGATGAACACCCACACGGTGA
CCAGCATCATGTTGCGCACCCTGGTTCATGACACTGCCAAGCTCTGGCGTGCCCATGGCCAGATATCGGCGGTGAAGATGTCG
AGCCTGAAGGCGAACAGGCAGATCAGGGCGAACAGCACCAGCGGCACCACCTTGGCCACAGTGGTGACCAAGTTGATGAAGGC
GGCTTCCTTGATGCCGCGCAGTACCAGGAAGTGACCCGCCACAACAGGATCGACGCGCCAATTATGGCGGCTGGGGTGTTCG
CTTCACCGAAGATCGGGAAGAAAGTAGCCAGGGTGCTGAACAGCAGCACGAAGTAGCCGACGTTGCCAGCCAGGCAGTATC
CAGTAGCCCCAGGCTGAGGAAAAGCCCATATAGTCGCCGAAGCCAGCCTTGGCATAACGCATACCCCCACCATCCAGGTCGGG
CTTGCGGTGGCCAGGGTCTGGAACACGAAGGCCAGGGTCAGCATGCCGACTGCGGTGATCGCCAGCCGATCAGTACGGCCC
CAACCCCTGCGCTGGCGGCCATGTTTGTGGCAGCGAGAAGATACCGCCGCCAATCATCGAGCCGACGACAAGTGCAACTAAC
GCGCGGAGCTTTAGTTTCCGGATGAATCAGACATTTAACAACCTCCTGCCAGGAGAAAGTTGACGACAGAATAGATCCGACGC
CTTTGCCCTGAGCTGACTTATGTCAGTTTAAGGCGCCGTGAAGGTAGGAAATTTCCCTTCACGGGTGCTCCTGGAGAGTGCCGA
CAGCTTGAGCTGCAGGCCCTTGCGTACTGGCACCTCCATGTCCTTCTAGAGCAAACGCTCTGTTCAGCCTGCGATGCTTGAAAC
TAGCTGCTTTTGCCGCTTTCGCAAATTTCCACAAGAAATTCGAGTTTATCCGTTTCTTTTCTAGTTGCCGGACTGCTGCTA
GTTTTGAGAGAGCAGGCACATAGACAAAGCAGTTATGAGTGATATAGGTTGAACGCACAGCTTTAGTATAAGTAACGATATTC
ATATAGCCCGCAAGGCTGTTTCAAACGCATGACAGGGCTCGAAGAAAGGGAGGCTCATGAGCGAACCGGGACAGAAGCTGCGC
CTGGGCGCGCTGATCGCGCTGGTGGTTCGGGTCGATGATTGGCGGCGGGATCTTCTCGCTGCCGCGAAGATGGCCGCGCGTGC
TGATGTGGGCGCAGTGCTGATCGGCTGGGGGATCACCGCGGTCGGCATGTTGGCCCTGGCCTTCGTGTTCCAGACCCCTGGCCA
ACCGCAAGCCGGAAGTGGACTCGGGGGTATATGCCTACGCCAAGGCCGGCTTTGGCGAGTACATGGGCTTTTCTCGGCCTGG
GGCTACTGGATCAGCGCTGGCTGGGCAACGTCGGCTATTTCTGCTGCTGTTTTCAGCACCCCTGGGCTTCTACTTCCCGGTGTT
CGGCGAAGGCAACACACCCATCGCCATCGGTTGTGCATCGCTGCTGCTGTGGTTCGGTACATTTTCTGGTGTGCTGCGG

37>chr1:3669415-3671610

PP3233-3234

Crp/Fnr family transcriptional regulator- Heat shock protein 20



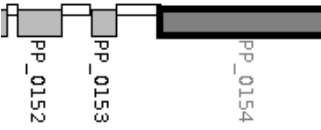
769	-1	CGGCACGCCCATGGCA	9.99
779	1	TGGCGATCTTCCTGCT	7.21
815	1	AGGCGCGGGGGTTGCG	8.61
1057	-1	TGGCCTGTGCAACGCT	7.94
1237	-1	TGGCAAACAGGCGCT	8.83
1316	-1	CGGCATTGCAGTTGAA	8.77
1641	1	AGGCGCACGAATTGCT	11.99
1939	-1	AGGCACTTTCTTGGCA	8.46
2031	-1	TGGCGGCGCAATTGCT	9.37

GATAGAAAAATGCGGGTATAGCCGGATCGTATCGATCTTCTTCGGACACAATTACAAGCAAGCTACTGATTTTCATGATCTAT
CACTTTTGGCGGATAGCGCCAGGCAAACGATCAGGCTTTAACGAAGCGTTCGACGCTTGAGCACGCGCGCGGGCAAGGG
GCGGTTCGATCTTCATCAGGTCGCTCGCGTGCCATCCAACCCCTTGGTTCGGACAGCCCGCAACGTTTGTGGGGCCGCTAAC
TTGAATAGATGCCTGCCTGAAAAAAGCGGAGGCATCGTCAATGTTCAGGCTCTGCAGAAATGGGGGCAAGGCCCCATGTGAAGTG
CCTTGCGTGCTCGTTGAGCCGGCTATGCCTGCCCCGCCAGCCTCAGCGCCGACGAAGTGGACAAACTGGAGCGAATTGTCCGCC
GTAACCGGCCATTGAAGCGGGGTGAGTACCTGTTCAAGGCCAATGAACCCATGGAGCACGTGTTTGCCTTGCCTCTGGGGCG
ATCAAGAATTTTCTGCTCGATGCCGAGGGCACCGAGCGGGTGACCGGCTTCCCTCCTGCCGGGTGAAATGCTCGGGCTGGACGC
TATTGGTGCCAGTCATTACCGAAGCTTTGCCGTTGCCCTGGAACCTCTCGCTGGTCTGCTCCATCAGGCTGGATCAGCTGGTGG
ACCTGTCCGGCCAGATTCCGGGGTTGCGTTATCAGTTGCTGCACATGCTCAGCCTGGGGATCCAGGGCAAGGACAGACACCTG
CGCTGCTGCCATGGGCGTGCCGAGCAGCGGCCTGGCGATCTTCTCTGCTGGGCATGTCGGCGCTTACCAGGCGCGGGGTTGCG
GGCGGATGTGTTCAACCTGCCCATGTCCCGTGGTGATATCGCCAACCTACCTGGACCTTACGCTGGAAACGGTCAGCCGACTGT
TCAGCCGCTTCGTCCATGCAGGTCCTCGTGCTGTGCGCCGGGCGTGAGGTGAGGCTCATCGACATGCAAGGCCTGGTCAACCTG
ACCCGCTTGAGGAGGCCACTTGAGCGCGGCAAGCACCCGGTTCATAGCGTTGACAGGCCAGCTTTTCGGCGAGTGCCCCCCC
CAGATCGGACGTGCCACATGATCCGTGCGTATCCAGATGCGCTGGGGTGCTACGCCCTGTTTGCCAGCACAGCTGGGCTACCTG
GCGCGCCACCTGTGACGGTGCGCAGCAGTACACCGTGTCCGGGTGAAAGGTGATCAGCAAGCGCCTGGTTTGCCAACAGCCAC
TGCTGCTGTACGCGGCAGTAGCGACAGCCAGGTTTCGACAATCGTCTGGCAGCAGTTCAACTGCAATGCGCTCATGTGACAGC
TGCAATTGTATCCAGGGCAGCCAACAGCGAATCTCATCCAGCGCACCCAGCAAGGGCAGCAGGCCATCGGCGCGACTGATGGC
CAGCAACCTTGACTTTGCATGGGCAACGGCCAAGCGCTGCCAAGCGGCCCGGAATAGTCGAACAGTTCCCCCGCCCGTCCCA
AGGGCTGCGCACTCTGGGTGCTGACGATAAATTGCCCGGCCACGCCAGGCAGGGTCACGTAACGTGATGGCCAGCACTCGGTT
CGACCGCTGAGCACACAGTACTGGCCAGCCATTGCCTCGCTGCATGACGGGCTGCAAAGGGCCAGGCGCACGAATTGCTGGAT
GCCCAAGGCCGGGCAATGTCTGGAGCAAGCGGACGCTGGCACCCCTCCCGGTCCATGACTGCCTCGCACGGTAATGATGACTTGC
TGTAATCAGCCTAGACCGTGGCCAACCCGGCACTTTGACCAGGATCAAACCAGCGGGCGGCAGGGACTTCACCTTGTTGATAA
AGATCAAATGGGGTGCTGCCCTCGGCGCATGATCGAGGCGTCTCCCTGGGAGGCATTACTCATTCATTCATTCGAGGAGGGC
GCCATGTGACAGCTGCGCAAGAAAGTGCGCTGTTTACCCCCGTGCGCCAGCCAGCCAACCGAAGGTTGCGCACCCAGCGTCGAACC
TTCAGAGCTGTGGCGGCCCTTCCAGCAATTGCGCCGCCAGATCGACAGCCTGTTTCGAGGATTTTGACGGCGGCGCGATGCGCA

TGCCGTTTCAGCCACACACCGTTTCGATGTCTGAACCGTTCTGGCGGCGTGACCTGTTTACCCACGGCATGCCGGCCATGGACATC
AGCGAGCTGGCCGAGGAATACCGCATCAGCGCCGAGT

38>chr1:161058-162630 PP0152-PP0153-PP0154

hypothetical protein- hypothetical protein- acetyl-CoA hydrolase/transferase



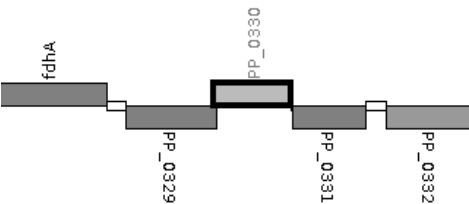
320	1	TGGCATTGGCAGTGCC	7.43
336	-1	TGGCACTGCCAATGCC	8.73
534	-1	TGGCACAGCAGTCGTT	10.59 orientacion correcta
1003	1	TGGAAAGACGATGGCT	9.41
1147	1	TAGTACAGATTATGCT	8.73
1542	1	TGGCACCACGCTGGAA	8.46

TGAACGGCGAAGCCTACCTCAGGTGCGAGGGCCGAAGCCAACGCACCTGTTGTGCATGGCGCGTATCAGAGTGCCAGGATGGC
CTGGGCCAGCTGTGCATCGCTGGCTTGCAGGGCCGGCATGTTTCAACGGATGTGCACAAAGGCGCTTTCCAGTCGGGCGCCGC
GGATAGCGCCCTGAGTGCCGACGAAGCTGGCTGCGTCATCGCGGGCTGCCCTGGACAATCTTGTCTGTCGCGGAAGGAAGAGCTC
ACGTCGGATGTGGCGTCGGTGGAGGCAGCAACGGCGCCCACTACCGCGTCGGTGGTGACAACGAACTGGTGGCATTGGCAGT
CTCAAGCCAGGCAAGCAGCAGGGCGGCGCCAAGCAGGTGTTTACGGTTTCATGATGTGGACTCCTGGGTAGGTTCAGGTTGGTTC
TGCTGTATCGGACGTTTGCAGGGCTCGTACGGTACGTTTTCATCAACGGGTTCTAGCAGACGGTTAGGCCAAGCGTATCACG
CAGTGCTGCTAGAGATGACAACTGCTGTGCTGACAACTGTTAAGGCGAATTTTAAATTTTGTAAACTGTACTGGTCG
CAATCTGAAGCACGCGACTGCGGCTCTCTGGGCAATAAAAAACCCGCTGCAGTCACCTGCAACGGGTTTGAGAAATTCACGG
TGCCGGCGAAGCCGGAAGCCGGGAGCTTAGCGCCAGAAAGGCTTGCTCAGCTCTTCGTAACGCTGCGACTCGCTGATACCGG
CGTCTGCCCAGCAGGCGGGAGTCCAGGCGAGCCAGTTGACGACGGCTGGTCATACGGCGCTGCCACAGCAGCAGGGTCGACAAT
CGCGCAGTGGCAGCAAGTGTGGATTGCTGGGCGTTGCTTTCAAAAACAGACCGGAACCTGAGGGTACGTTCCATGATGCT
TCATCCTTCCGCTTATGGCGGCATTAGGTAGTGATTTAACTGATGCCAATGATCCTCCTCTGTCTGTCATAACAGTAGATACA
GTTTCGGTGGAAAGACGATGGCTCAGTTAACTGTGTAACCCCTACTGTTGCACTCGAAATAGGCGTAACGTACTGGTCCGCACT
TATTTGGTGCCTTTTGATTGCAAGAAGGGGATTTGTGCTGCGGAAGGTCTGAAAGAACCAGCACAGTAGTACAGATTATGCT
GCTAGTAGAGGGGTGGCGTAGTGATAGAAGGGTTTGACTGTTATGGCCCATTCGCGGGCAAGCCCGCAAGAGGCCGGAACAG
CGGAAGCAGGGCCGCCGTTCCGTACACATCCGATCAGCTGGCCAGCATGCGCCCGGTTTCTTCCAGGTTTTCGTGCCAGCT
CAGGGCTTCGCGCAGGATGTGCGGGGTATGGCCGCCACGCTGGCAGGCGCGGTGCAAGTAGTCGTTTACGCGCAGCGCGATAGT
CTGGGTGCACACAGTTGTCTGATGATCGCTCGCGCCCGTTTCGCGCGGCGCCAGGCCACGCAGGTCCGCCAAGCCCTGCTCGGTG
ACCAGGATGTCCACGTCGTGCTCGGTGTGGTCGACATGGCTGACCATGGCACCACGCTGGAAATCGCCCCGCCTTTG

39>chr1:395592-398805

PP0328-PP0329-PP0330-PP0331-PP0332

fdhA (formaldehyde dehydrogenase) – hypothetical protein- hypothetical protein - hypothetical protein - acyltransferase

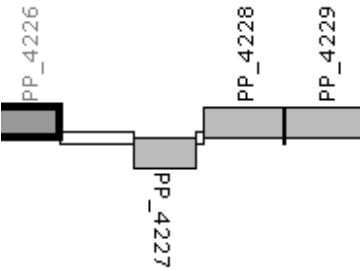


155	1	TGGCGAGTTTGATGCA	9.46
1663	-1	TGGCCTTGCTGTTGCG	9.78
2038	-1	TGGCGAGGTACTGCA	8.58

TGGGCTGGGCGAAATCGCACAGCTTCCACACCGGCCAGACCCCGACCATGAAATACAACCGCCAGCTGATGCAGGCGATCATG
TGGGACCGCATCAACATTGCTGAAAGTGGTAGGTGTGCAGGTGATCAACCTGGATCAGGCGCCGGAAGGGTATGGCGAGTTTGA
TGCAAGGTGTGCCGAAGAAATTCGTTATCGACCCGCACAAAATGTGGGGTGCGGCGTAAATCAGCGTCGAGTAAAAAGAGCCCT
CGCATCGAGGGGCTTTTTGTCCATTCTGATAAGACATCTCGGCCGAGGTGCTTGTCTATAAGCCTTTCATCGCTTTTGAAGTC
GAGCGCCGCCCGCACATACCTCATCAGTTCCGAAGCCTGGTGAGTGGCCCTGGAGCGAAGGGCCACTGCGCAGTCATTTTCAT
GCAGACAGTTAACTACTCCGATTGTGGCCGGCGCGTCTCATTTGTTTTCGCTCGGTGGCCCCGAATTGGTAGTTTCTGTCTCAT
GAGGATCGTCACGTTTTTTGGGAGCGTAGAACATGTTTTTCAGTATCGGTGTTCCCGCTCGTTGGGTGGTAAGTATTAGGTTTT
GAATTTTTTATAGCTTTTTTGGCGTAGTAATGTTTCGGAGTAAATGTATGCGTGATCTTTACTTTCTACGTATTTATTTATGCC
GCGTTCCCTTCTCAAAACCCCTGTCAAGCGTTTTTTTGGAGGGTTTTCCCTAGCGGCGTCAATTCTTGGGGTGACTGTTTGTCTT
CGTATTTTTTTTCGCGCGACTAAATTAATTGAGGTGCTCGGTTTTGCTCTTTTCATTGTTTCATTAATAATCTTTATGCTTGCCAGG
CGCTGATCCATTTTTGCTTGGTTACTACGAAACCACGTTCTAGGCTTGAAAATACCCACATCCCCGTTTTCGTCTTTCCGATT
GACTGGGTGCTTTCACACAGTACGCGAAAGCATTGACCCCGCCTCGGGCGAATGGGCTTTCAGCATTTGTCGGTCCGATGAACC
GTCTCATCTCGGTGCTAAAGCCACGGTGTCTTTGGCCTAGGAGATAAAGGTGTATGTTGTCCAATATGAACTCGCCGTTGAAT
CCTATCGCTGGGGATCCTGATGGCAGTTTGTCTGTTGATCCAAAGGGGTGTAGGTGTGATTTTTTTGCTTTCCGTGAGGCGT
GCTCACGACAAGCACTGAGTCCATCTCATCTGTTGCGAAAAGCTGGGAACCTCCTGCTTCTTTGCCAGCGGACTCAGCAAGAG

GGAGCGTTCCAATCCG CAGGATTGAACGCTTCTGATCGTTTCCAATGACAGTGGTCAGTTTGTCTGGTCTGGTAGAAATATTTG
GGGTATCAGGACTGTTTTTACCAGCTGCTCCCGTTGTCTGTCAGTTGGCCCCGAAATAGATGGCCTGGGCACTACGATTA
TCTGGAGTGTCTTGAACAATGACTACTGGCAGAAATATCAGGTATGCACCTGTTGGGGCCCGGAACAATCCCTCAGATTTCC
AGTCAAATCCTTCGTTTTCCAGGCCATCCCGCCGACGAGGTCCCTTCCGATGAAAGCACTCACCTTGGCAACCCTGATGACC
CTGGCCGCCAGCCCGGTGTTTCGCCCTTCAACCTCAGTGACGCCGCCAATGCCGTGTCCGCCATGCAGAACC CGCAACAGCAAGG
CCAAGGTGCAGGCTCCCGAGGCCAGGCCAATCTGCTCAACACCTTGGGCAGCGAATTGAAGATCACCCCCGAACAGGCCGTGG
GCGGCGCAGGGGCGATGTTGGGGTTGGCGCGCAACAACCTTAGCAGTGAGGACTATGGCCAATTGACCAAGGCCGTGCCGGT
CTGGACCTGTTGTCCGGTGCCAATATGCTCGGTAGTTTGAAGCGGTTGGGCGATTGCTAGGCAAGAACAGCGAAAGTCAGTC
GGCGTTGAGCAACGCGCTGGGCAACGACGTGGAGAACCCTAATGACCTGGACAATGCGTTCAAGGCACTGGGCATGGACACTG
GAATGATCGGCCAGTTTGGCCCGCTGATCC TGCAGTACCTCGGCCA GCAGGGCATCGCCGGGTGTTGCTGCAGAACCTGGGT
AGCCTGTGGACCACGCCGGCGCCAGTGAGCACGCCATCGGTTTGA GATTATCACAAGGCCAGACG TCATACATCGAAGGTCTT
GAGCGTCACTTCCAGGGCTCTGATTCGATATTGTGCTTCAGTCAGCCAGACTTCGCGTGATTCCATTTCTGTACGATATTGCT
GGTCACTGATCCCTTGGATTTTGGCGAAGGCTTTCGAAGATGGTTTCAAAGCTCGGTGTATTCTTGTCTGTTTTTGCCTGCG
CGTTTAGTGAGATTTTTTATATAGATGGCTAATGATCGTCTTTCTTTGAGAAGGTGGTTTTTGTGGGCAGTCTGTTCCCTCAG
GTACGTCTTGATCGTTATGTCTTTGTTAAAGGCAACAGTCTTTTTTTTTCGCCAAATGGTGTGAAGCGGAGTGCCTGGCGTTCA
ACAGAGGAGGCTCTATTACCTGCGCCGAGGCTTTTTTGTGACGGTGCTGTTCCGGTGAGGTTTCGGGTTAGACTTTTGTCTCC
CAAACTTTTTGTAAATTGGCGAATTCCCGTTGTTGCCCTGTATCATCCCGGTAATTGATGGGGTCACAGGCACAGTATGCGTA
GGCGTTATAGCCACCGTCGCTGAACGGGCTGAGATCATCGGGCTTGAGGAAGCGCATCAAGGCTGGACTGTAGCTTCGGTATC
CTCGCCCCAATGCATAGGTGCCAAGGAGCGGATCAAATCGTTTCATCCTTGAAGCCAATTATCGTGGCTCTACCTGCTTGGCTG
CCGATGTGCCCGTAAGGGCTGTAGACCAGGGCGGTGACTTTCACCTGAGAGCGCCTCGCAAGAGACATGCTGCTTAAGTCTTC
GTCTTTGGGAGGCCGCGACAACCTAGCAGAATTATCAGGGGGCGCAACGTAACGTGTGCTGATGTCAACCGGCTGCCTGCTTCG
GCCTCTTCGCGGGTAAACCCCTACGCAAGGTAGACCTATCCTTGGGGATGTGGTAATCCGCGTAGGAGCGGGTTTACCC
GCGAATGGGCCAGTTTCAGGCGGCAGAGGTGTTAGCCCATCTCCGCCCGCAGCTGCTCGATCCGCTGGTCTTTCGCTACCCACA
GCTGGTTTACCCAAAGCCTGCACCGCTGACGAAACTCGGGATCATTTCTCGTAATCCCCC

40>chr1:4799079-4801473 PP4226-PP4227-PP4228-PP4229
hypothetical protein-hypothetical protein-hypothetical protein-hypothetical protein



41	-1	TGGCGTAGCATGTGCG	7.62	nada
1207	1	TGGCGCAGGTCACGCA	7.98	
1629	1	GGGCACCCCTCCTTGAA	8.50	
2177	1	TGGCAAGACCACGGCT	8.48	

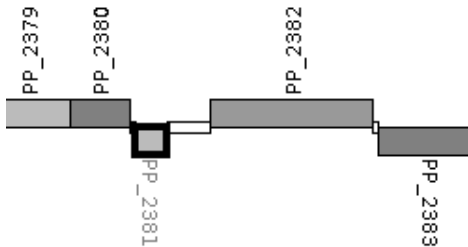
TTCTACCACGCTGAATGGCAGGCGG CGCACATGCTACGCCA GCGCTTCGCCGACCTCGACATCAACAGCATCATCGACGAAC
GCTGAGGGTTCGTGCAGCAGATGGCAATGATCGTCTGTCGGCAGCACCATTACCGGTGGCCTGCTTGGCGCGACGGTAGGCGCAT
TCGCCGGCGGGCGCCGGAACCATTCGCTCGCTGGTGCAGGCGCGGTTCATGGGCCCTCAAGGTCAGCGGCTGGATCCTTGGCGCG
CTGGGGCTGGCTTCCATCGCCGAGTTCTTCGTCGAGGGCTTGCCGCGTATCGGCGGATGAGGAGCGCGACAATGGACGAATTT
TTCTCCCTCTTCATAGAAGAGATGGGCGAGCCGATTTTCAGGCAGGAGGTGCCCTCCTTCTAGCATAGAGCGCTACAGCGGTAA
ATTGCCGAAGAACTGTTGGAATACTGGACCGAGCACGGATGGTGCAGATATGGTGATGGAATATTCTGGACGGTCAATCCGC
AAGACTACGAGGGCGTAGCCGCCTCATTCATAGAAGGCACTGCGCTCGAAGGGCGAGATACCTATCACGTCATCGCTCGGGG
GCCTTTGGTGATCTCTATCTGTACGGAGAAAAATCCGGTTTTTTCATTAGACATCGTAGCCACACTTCACAATACTGCGGCAG
AGTGAATGAACCTGATGCAGGCAACATTGACAAGGAGGTGCAAGGCTTCTTTCTATTGATCGAACGGGAGTGCAGACCTTTG
GCGATTTATTTCGATCCTGCAATAACAAATTAGGCAAACTCAATCATGATGAGATGTATGGCTTCGTTCCAGCCTTGGCATT
GGTGGCCCCCTGCGATCTTGCCACCTAGAAAAAGTCAAAGCTGTGAGCACTTAATACTACTTGCACAGATCTCCACCCTCGA
ACCCATAGCTTTTTCTGACTTCTAAACACAGTATTGGCCGGGAAAAAGCGGCGGATGAGATGCACGGCTTCGTCCCGGCGTCC
ATGACGCCATCGTGCTTGTGGTTGCTGGCGAGGATCTCGCCACGCAGCGAGCTGACCTGACAGGCCATGCCATCCGGTACGCT
GAACTGGTCGGCGGAAAAATGCGCCTCCCCGCCCTTGGCGGTGAGCGGCTGCGGCAACTGGTTCGATCAGCCCGGCGACCATA
GCGCCGACGCCGCCAGGCGCTGGTCGAGGGAGAACATCATCTGC TGGCGCAGGTCACGCA GCATCCACGCCGCGGCCAGCGCC
CAGATGATCACGAAGGCGCTGTGAGGATCAGGCTCAGGCGTACCCGAAGGCAATGGCGAAACAGACTAGCCAGCATCAAAGA
GGCCCGGAAAAATCGCCGAAATTCGGCATCCACTCGACTTACATGAATGTAAGACTTCATAAGTGCTAACGACAAGAGGCAT
CGCAAATGGATGAGGTATTCTCCATATTCTTTGACAATATAGGCGCGCCTTTTTTCGCGTCGAGAGGTGCCCCCTCCAGTATT
GATCGCTATAACGAAAACTCCAGAGT TGTTCAT TGCATACTGGAAGAGCATGGATGGTGTGGTTTTTGGCGAAGGTATATT
CTGGCTGGTTAATCCACAGGAGTATGAGGGCGTTGTCTCATCTGGACCGA GGGCACCCCTCCTTGAA AACCGGGACACTTACC
ACTTGATTGCCAGAAGCGCTTTCGGCGACCTGTATCTTTGGGGAGAGAACAGTGGCTTTTCAGTAAAAATCACAAGTCTTCTG
TCCCGTTACACAGGTGAAAACTGCACACTCACTGAAACCGAAGCAACCAGAGAGGTCCAAAGCTTCTTTCTATCAAGAAAAA
AGAACACAACGATTTTGAAAACTTTTTTGAAGCCGCGAAGAAAAAGCTGGGCATTTTGAAAGAAGATGAGATGTATGCCTTTG
TTCTGCAATTGATGCTGGGAGGGCGCCCCGACCTCAAAAACCTAGAAAACTTAAAGCAATAGAGCATTTGATTTTGTCTGTCT

CAAATCACCGAACTCGAACCCTACAGCTTCTCTGACTTCTGAAGCACACAAAAGGACCTAAACGAATGGATGTCATCTTCAGCA
 TTTTCTTGAAACCTTCGCGGACCCCATCGGCCAGCAACCCGTACCCCTGCGGCTGTCGATCATTACCAAGGCAAACCTCCCC
 AATCGCCTCCTTGAATAC**TGGCAAGACCACGGCT**GGTGCGGCTACGGCGGCGGCTTGTCTGGCTGGTAAATCCTCAGGAATA
 CCAGGGTGTAGTGGCTCTTGGTTGGCAGGTACGCACCTTCAAGCATGCGACACTTATCACCTCATCGCCCGCAGCGCTTTTG
 GCGACCTGTACCTATGGGGTGAGAAAACCGGTTTCGGTGCTGACCATCGCGGCCCTACCATTCCTCGTTACCT

**** 41>chr1:2720049-2722903**

PP2379-PP2380-**PP2381**-PP2382-PP2383

electron transport protein SCO1/SenC- hypothetical protein- **hypothetical protein**- transporter- AraC family transcriptional regulator



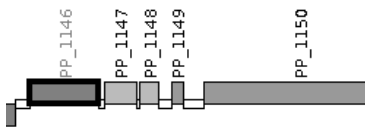
402	1	TGGCCAAGACCGTGCA	9.12
887	1	CGGCAATCTCCTTGCA	10.11
1018	-1	TGGCCAACCTCTGCT	9.88
1013	1	TGGCCAGGCTCTTGCG	10.09
1331	1	TGGCCAATATTTGGCA	8.36
2037	-1	TGGCGCACCCATCGAA	8.06

GCTGACCGGCACCCCGAGGAAATTGCCGCCGTGGCCAAGGAATTCAAGGTGTTTTACGAGAAGGTTCCGGCCGGAGACACCT
 ACACCATTCTCTACTCGTCCACTAGCTACGTCTACGATACGCGTGGCACCCTGCGCCTGAGCCTGGGGCCATTCCCTGAACGCC
 AAGGAATGCGCCGAAGATCTGGTCACCTGATGGAGATCTGCTGAATGTCGATGCAACCGATCAAACGCGGTCTGGCTGCCCT
 GGTACTGATGGGGCTGGCCCTGCCGGCCCTGGCCCAGACCACCGTGAGTGATGCCCTGGGTGCGTGCCAGCGTGGCGCACCAGC
 AGTCCACCGGTGCTTTTCATGGTCTGACTGCCAGCAGCGACAGCAAGCTGGTGGGCGTGGCTTCGCCCC**TGGCCAAGACCGTG**
CAGGTGACGAGATGACCATGAACGGTGACGTGATGGGCATGCGTGAGGTCAAGGCTATCGAATTGCCAGCCGGCAAGGCAGT
 GACCCTGGACCCGAATGGCTGCATGTCATGCTGATGGGCCGTCACAATCAGGTGAAGGAGGGTGACAAAGTGCCTCTGACCC
 TGACCATCGAGGATGCCAAGGGCGCCAAGGAAACCTTGGAAGTTCAGGCACAAGTGCGTGCGCTCAACGCCGACGCGGGTGGT
 GGGCATGATCACATGCACATGAACCACTGACAGATCAAAGGGCCGCTTCAGCGGCCCTTTCTTTTCAACTGCGCCTTTCAG
 CTACGAAAGCGCGGCAGCGGTCTGTGAGGGTCAGCGACGTGAGGTCTTTCGCAACCTGGGCCCTCATCGGCCTCCAGTGCCTT
 CAGGTAGCGCGGATCTTGGCGGCGGCGGCACATCGCCCTGCCGGTTCGATCCAGT**CGGCAATCTCCTTGCA**AGGCACTGCT**CA**
 GACAGGCTGGCGCTGGTTTCATCAACGACAGAAAGGGTGGTGAGCTCTCTTTCGACATGGCAGGATCCTCCATTGAGCCTTGT
 CAGTGT**AGCAGAGGGTTGGCCA****GGCTCTTGCG**GCCTTTGCA**AGGTGCGCTGCGGCAGCTGCCAGTGGCTGCTCTTGCGGCCCA**
GTAACAACTCGTTACTTATAAACAGCGTGTTTAAAGTTGATGCTCGTGCCGTGCAAGGGATTGAGGGCTCGATTTCTGAACGT
 GACCTGTGTGAAGTGCTCAACTGCACAGTCGGGAAAATGCCGTGCGGTCTGCATTCAAAGAATGGTTGTTGTAGGAAAATTCCG
 GGTTTCTGATTTTCGCTTGAGAAAGCATCGCGCT**TGTTAC**AACTTTTCATGTTGAGCTCAATCCTGGCCGAGTCTTAGATTGA
 GT**TGGCCAATATTTGGCA**ATCTCAATCGGCTCAAAGGAGTGCCCATATGAATCTGCAATCCAAGTGTTGAGGAGCGATGTCGC
 CAGGAAGTACCCGCTAATGCTGACATTGCGCATTAAACCCGGAACGCGTTTCGCTGTGCTGGGCTACAGCTTTTCCAAATGTG
 GTGAATTTGCCTTCGAGGCTGCATTTGCCGTGGCGATCGTGTCCATCACAGATGCGGATATGCTTTTGATCGGCATCGCCTAC
 TTTTTCGTTACTTGCCAAGTGTGGTGTTCGCCATTGGGTGGCTGGCTGGCAGATAACGCCAACAAGAAACACACACTATT
 AGCAATCGAGGTGACAAAAGGCTGCTGGCACTTTCTTCTTTGCTTGTTCAGCGTGTTCAGCCAGTATTACTTGCCTTGG
 TGGGCTCGCAATGGTCATGACAGCGCTCGAATGCCCTTATGTGCCACGTTTCGCGCGTACTTTCGGGACCTTGTGCAAAAG
 GATGAGTTAGCCACGGTGAACAGCGGTATCCAGGTAATCGAGGACGCCGCTCGATCCTCGGGCCGCTGGTCTTTTCGGCCTG
 TG**TGTTAC**TGCTGTCTCGAGAAGCCACTTTCTTGTTTTTTGCAATGTGCCTTATCGTGTGCGCCATTTGTATCGCTACCTTGA
 CGCCTGCCAGGTGTAGTGTCCAACAGGCA**TCGATGGGTGCGCCA**TAATCAGGGATGCGGCGGGCAGTGTGAGTCAGTTGAGG
 GCCGGCAATGCGCCGTTGTTTCGCTGTCAATTGGCTGCACCACACTCTGTGCGATGTTTCGCCACGTGCGTGATTGCTTTATCCT
 TCCAGCATCGGTGCTGAGCACTTCGCCCTCTGAAGCGGCGGTTGGATACGTGTTTTCACTGCTTGCGGCAGGCACGGTGGTGG
 GGGGCATGCTCTACACGCGCTTCAATCCGCGCACAAACCGCAGGATTGGTGCTGCGTTACTGGATGCTCTATGGCGGGCTGTTT
 TTTGCTGACAGAGTGGCGCTGCAATTCAATAACTGGCTGTTCTGTTGATTCTGTTCTTGGTTGGTTTTCATTGGTGCATTTGT
 CGATATCGCAATCGTGACCAACATCCAGTGCTTGTGAGGGAGCATGAAGTGGGCAGGAATTTTCCCTCTATTACTTCACCG
 CCGTGATGAGTGATGCCGTATCAGGGTTGATTGCCAGTTTGGTCTTCGTGCTTGCGGGGCCGGCAACCTTTATCTGGATGACG
 CTCA**TGTTAC**TCATCGCGCCAGTGCGCTGGAACATGAAAGGACGTGGCCAGATGTGACAGCCGTACATAGCTTGGGCCTGG
 CGTATAGATGCAAGTTCGAGAGGGCGCTGCCGCCCTTTACGCGCGTAGAGCAGAATGAACGCAGGCTTGCCGATACGCCCC
 GGGGTACCCCATAGGCTGCTTGAACCTGCCGGCTCAAATGGCTCTGGTTCGGCAAAGCCGAGGTGAACGCCACTTGCGAAGC
 GGCCAGGCCGTGCTTCAGCATTTTCGCGGGCGC

42>chr1:1314391-1316995 PP1145-PP11**46**- PP11**47**- PP11**48**- PP11**49**- PP11**50**

HepA (ATP-dependent helicase)- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- fusaric acid resistance protein

423	-1	TGGCAGACATGTTGAT	12.62	
532	1	AGGTACTGGGCGTGCA	7.37	
627	-1	TGGCCTGGCCATCGCT	11.33	
2175	-1	GGGGAAAAGTCTTGCT	7.54	orientacion correcta

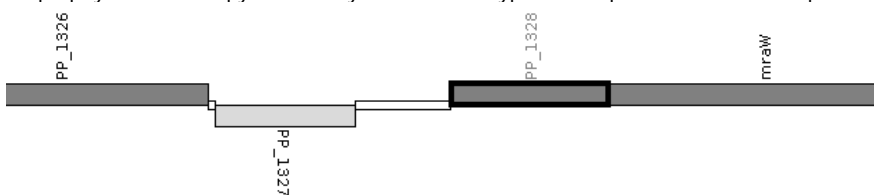


AGGCCGTGGTAGACCATCAGCCCGTCGATGTCCTCGACCTCGCGCACGGTCAGCTTCCAGCCCTCGAAGTGGGTGATCTGGTC
ACCTGGCGAGAAGCGCACGCGGGTCAGCGGCGCATTGCGCAGGGAATACTGGCGGGTGTGCGCAGTGGCCGGGTAGAGCACGG
TCAACAGGCGGCCATCCTGCGCCAGGATGGTACCCAGGCCGAGCTCTGCTTCGCTGTGCTGATCCAGCGTTGCCCGGTTGA
TACTGCTGCGCCATACTGCCTGAACTCCCAGGATGAAAAAGCCGATTATGTTAACGGATCGGCCGGTCAGACCAAAGTGCCGA
TAGCACCGAATGGTATCGAAAGGCACAGTCTAGTCGTTTCATCGCCCTGCACAGCGCCGCCGATGAGGGCCCCGGATCAACAT
GTCTGCCAAGCACCGCTGGATCAGCGCTTCGATGGCCGTGGGCAGCCTGGTGTCTGCTGAGCGCCTGCGAGCAGAAAACTTTG
AGACATTGCCCCCATTCGATGGAGCAGCTTGAGGTACTGGGCGTGCAAGTCCGATAAAGAGCGTGCACCTTTCGTGACAGT
GACGGCGAAGGGCTGCTGGTTCCTGAGCCGCAGCGATGGCCAGGCCAGCGACCTGGAAAGCGAACAGGAAGTGGACAAGGTGGT
GCTCAAGGCCACCTTGTACGGGCGCACGGCCGAGAGCGACGCCCTTCAAGGCGCGTTGGCAGGTGAGCAGGAAACGACCTGCC
CGGGGCTGGACCTGGATGTGGACTTCTATAATGACGTCAGTGATGTCAGCGACCTGAACAGAATGGAGTGGCCGAGATAACG
GTGGCCAGCCATGCATTCTGCGGCGGCGGTATCGACCCGCATGACATCGCCATCGAGATGCGTGAAGGGCAGGCCAGTTACAC
CATTACCGGCCAGTCGCTGATCACCCTGGCGGGCGAGGAACCGATCGGTGGTGAGCGCGAGGACAGCGCTTCGCTGAAAGCCG
CGCCGAGGTATTGCGCGATCATATGGATGCGGTTTGGCAGCAGGTGTACAAGCGGCCCTGGAGCGAGGCCAGCCCGCCAGTC
GACGATGAGCCGGGTGACGAAGCCGAGTAAATGTTGTCCATGACATCAAGGTAAAGCTGCGCCTGCCGATACAGGGGGCATAG
GAGAACGTCCATGCTGCCGCCGATCATTCCGCTCAGTGCCGCCCGGTAACCTCGCAACAGGACCCGGTCAAGCCAACCCCCG
ACGTCAAGCCGGTGGTGCCGACGCAGCCTGCGTCCGGCGAAAGTGCCATTGACCTCAAGCGCCAGCGCGACCCGCAGGAGCAG
GTATTGTTGCTGCGCGATGAACAGCGCCGCGCAGCAACGCCGAACAAGGGCGAGCAGGAACGCTACGAGGCCGTCCCGGG
TGACGAGGTCAATGCCGACAACACCGTGCCGCTAGCGCCATTGATGGGCGAGCATGTACGCCAAGGACTGCTGGTGGACATCG
AAGTCTGATACGGGGCTGGTCAGCGCCTGCGCCTGGCTTCATCATGCAATTCTCTGTTGATCGTCGAGCCCACCCCATGAGCC
AAGACAACCTCATCGATTTCGATGCCGAACGTGCCAAGCGCGTCCACGACCTCAAGGAAAAGCGGCTGAACGAAATGCGCAAT
GCTTTCGAGCAGGCCCTGCCATTGAGTACCAGCAAGAAAAAGAAGCCCAAGGGCAAGCCTAAGAAGCGTTGAAACTTGACGCA
GGTCAACCCTGCGCCCCCTCGCGTGCCCGGCCCTCGGGCACCATTGACACTGATCAATTTTCCCGCGCCACATTGGTTAAC
GTGTACCCATCGGACAACGGCAACGAATGGGGAGGCCAGCATGTTCTTCGACAACGTGGTTATCGCCGGTGTGGTAACGGTC
GGGCTGATGGTCGCTTCTTTGCCGGTCTGGGCATTTTTCATCTGGAAGGACTCGAACAAGCGCAAGCCGCGCTGACCTTCCGG
GTACACGAGCAGCAAGGCATTTAGGGCGACTTCGGTCGCCCATTTTTTTTTGCCTGCATTTTTTTTATTGTCTGAGCTGTCCCTT
TCAGTGAGGCCAATCGAATATACATGATTAGCTAGCTAATTAATCGTTTCCGCTTTATCCTGCTCATATTGTCTATCTTTT
CAGCAAGACTTTTCCCGCAAGGTCCGCTCTGTCGCCATCACCTTTTACGGCCCTGTTTCGCGCCAGCAGCCTCGCCCTCAAGT
TTGCCATCAAGACCCTGCTCGGGGGCGGCTGGCGTTGTGGCTGGCGATGCGCTGGGGGGCTGGAGCAACCCTCCTGGGCATTG
ATGACTGCTTTTCATCGTCGCCCAGCCGCTATCGGGCATGGTGGTGAGAAAGGCTTGGCGCGGTTGGCCGGCACGTTGGTGG
CACAGTCATGTCGGTGCTGTTTCATCGGCCCTGTTTCGCCCAGACCCCGGCTGTTTCTGCTTACCTTGGCGCTTTGGCTGGCGC
TGTGTACCGCAGCGTCCACCCAGTTGCGCAGCGCCTGGGCCATGCGCTTCGTGCTGGCCGGCTACACCGCAGCGATCATCGCC
TTGCCGGCCATTGACCACCCCTGCAAGTAT

43>chr1:1512350-1514419

PP1326-PP1327-PP1328-PP1329

uroporphyrin-III C/tetrapyrrole methyltransferase- hypothetical protein- cell division protein MraZ- MraW (S-adenosyl-methyltransferase)



1533 1 AGGCATTGGCCTTGCG 9.69

GACCTTCGAGACCCTGAAGGGCTTGCCGCTGGCCGAGTTGCGCGCCTTCGTAGCCGGCGACAGCAATCAGCAGCGTGGTGAAT
GCGTGGTGCTGGTCGCGGCTGGAGTGCGCCGAGGGCGAGCAGGCCATCAGTGCCGAAGCGCAGCGCTGCTCGATCTGCTA
TTGGCTGAGTTGCCACTGAAGCGGGCGGCGCGCTTGCAGCGGAAATTACCGGGGTGCGCAAGAACCTGTTGTATCAACTGGC
CCTTGAAGAGCAGAAAGCCGAATAGTGGCAGTTTGATATAAATGCCGTTAGCGCTTGTCTTGCGCCCGCGTGTGCGTAACCT
TGGCGGCGGAGAGTCGATCGGACAGTCGCTGCCTGTTTTTGTTCGCAACTTTTTTGTGTGTGAGCAGCAGGGGGAGGAAAGT
CCGGGCTCCACAGGGCGGAGTGCCAGGTAACGCCTGGGAGGCGTGAGCCTACGGAAGTGCCACAGAAAATAACCGCCTAAGC
ACTTCGGTGCCGGTAAGGGTGAAAAGGTGCGGTAAGAGCGCACCGCACGGCTGGCAACAGTTTCGTGGCTAGGTAAACCCACT
CGGAGCAAGACCAAATAGGGTTCCATCAGGCGTGGCCCGCTCGGAACCGGGTAGGTTGCTAGAGGCGTCCAGTGATGGCCGT
CGTAGAGGAATGACTGTCTTCGACAAAACCCGGCTTACAGATCGACTCTCCACCTTTCTTTCCCTGCTTGAATCGATAGCAGA
TCCTCTCTGGTAATACCGAAAAATCTTACTCTTAATAAATTACTTTAACTTCGAACCTCCATTTCGCTTGGTGGTGGTATT

TTCTCGTGT TTTTCTCTCTGGCAGTCCTTCCGCATTCCCTTGTGTGCGCTAAATCTCGGTCTGTAAAGGCTTTTCTTTATGA
ACGTGCCTTGACGGTGCTGCGGGCGGATTCCCTATAGTGTGCGCAAGTGGCAGAAAGTGGGATGAAGTGGGTTTTCTGACACAA
AAAAGCTAACA TTGTGGGGAATCACAGCCGTGTTCCGCGGAGCCAACGCCGTGAGCCTCGATGCCAAGGGCCGTCTCGCCATG
CCGAGTCGGTACCGTGACGAGCTCGACTCACGTTGCAATGGCCAACTGATCGTGACCATTGACGCCGTAGACCCCTGCTTGTG
TGTTTATCCCCCTCGATGAGTGGGAACAGATAGAAGCCAAGTTGCGTGCCCTTGCCATCGTTGCGTGAGGAAAACCGCCGCCTCC
AGCGTTTGCTGATTGGTAATGCGGTTGACCTGGAGCTCGATGGCAGTGGGCGTTTCTTGGTGCCGCCCCGCCTGCGTGAGTAC
GCCAAGCTCGACAAGAAGGCGATGCTGGTGGGGCAACTGAACAAATTCAGCTGTGGGATGAAGATGCCTGGAACGCGGTTTC
GGCAGCTGACCTTGCACTATTCAACAACCGGGCGCCATGCCCGACGAATTGCGTGACCTGATCCT GTGACCATAGATAGCGG
CTTCAACCACATTACCGTCTCTGCTCGACGAAGCTGTGG AGGCATTGGCCTTGCG CGCCGACGGTTGCTATCTGGACGGCACTT
TCGGCCGGGGCGGACACAGCCGTCTGATACTCAGCAAGCTCGGGCCGCAAGGGCGGCTCTTGGGCTTCGACAAAGATCCACAA
GCGATTGCCACGGGGCAAGCGCTGGCGGCCGAAGACGGCCGCTTTGTCAATTGTGCAGCGCAGTTTTGCCGAGCTGGGTGCGGA
AGTGGCAGCGCGCGCCCTGCACGGCAAGGTCAGTGGTGTGTTGCTGGACCTGGGCGTGTCTTCGCCGCAGCTGGATGACCCGG
AGCGTGCGCTTCAGCTTCCCTCAATGATGGCCCGCTGGACATGCGCATGAACCCGACAGGGCGTCACTGCCGCTGAGTTCATC
GCCACTGCGCCTGTTGAAGAAATCGCCCGCTCTTCAAGGAGTACGGCGAAGAACGCTTTGCCGGGCGAATGGCGCGTGCAGT
GGTCGAGCGTCGTGAGAAAGCAGCCCTTACCCGTACCGCCGACCTGGCGGAGGTGCTCAAAGTGGCCAACCCCTGCAT

44>chr1:2201569-2203840

PP1946-PP1947-PP1948

short chain dehydrogenase/reductase oxidoreductase- Leucyl aminopeptidase (aminopeptidase T)[Aminoacid transport and metabolism-
betaine-aldehyde dehydrogenase activity

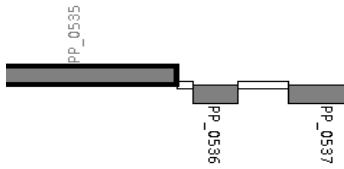


37	1	CGGCCTGGACATTGCG	7.68
412	1	TGGCACTCCAATTGGA	9.57
544	1	TGGTACTCGAATGGAT	7.15
715	-1	CGGCAGACAGCGTGCA	7.20
1111	1	TGGTCCAGCGGGTGCT	10.00
1150	1	CGGCAGGAAGATTGCT	11.50
1429	1	TGGCATGGCCGTGCT	8.49
1453	1	TGGCAAGCAAGCAGCT	8.12
2208	-1	TGGTATAGCGTGGTA	7.13

CCAGTCGATGCTGGCTGGTGTCTGTGGCGCATTACGG CGGCCTGGACATTGCG CACAACAACGCCGGCATTGAGGCCAATATCG
TGCCCGCTGGCCGAGCTGGACTCCGACAACTGGCGTCTGTGTCATCGATGTGAACCTTTCTCTCGGTGTTCTATTGCCTGAAAGGT
GAAATCCCCCTGATGCTGAAAAGGGGCGCGCGCCATTGTGAATACCGCATCGGCCCTCCGGGCTGATTGGCGGCTATCGCCT
TTCCGGGTATACCGCCACGAAGCACGGCGTAGTGGGGCTGACTAAGGCTGCTGCTATCGATTATGCAAACAGAATATCCGGA
TTAATGCCGTGTGCCCTGGTCCAGTTGACTCCCCATTCTTGGCTGACATGCCGCAACCCATGCGCGATCGACTTCTCTT TGGC
ACTCCAATTGGA CGATTGGCCACCGCAGAGGAGATCGCGCGTTCCGGTTCTGTGGCTGTGTTCTGACGATGCAAAATACGTGGT
GGGCCATTTCGATGTCAGTCGACGGTGGCGTGGCAGTGACTGCGGT TGGTACTCGAATGGAT GATCTCTTTTAAATCCATGTAG
CGTTGCTGGTTATGAATGGATGCGCCTAGTTCTCGCCATTGCTTGGTAAGGCTAGGCGCACTATAAGTTTTATTTGATCTGAA
ATTTGGTTTTGTGATTTTTACCTGTGGGTATTTAT TGCACGCTGTCTGCCC CCTACTTTTTGCCACTGCAATAAATGGAGAGT
TCAATTGAACAATCAAGATTTGGTTAAGGTGCTTGAACGCCCTTTGAAGTTAAATGCGAAATCAGGCGAGCAGATTTATATTA
TTACCGGATACCTGCGATGGAGCCCGAAGTCTGGCAGGCCCTTCCCCAAGCAGCGGTGAATCTTTCCATGGAACCCACGGTTGCG
ATCATGCAACCGCGCGCTTCCATGCTCAGGACCTTATCCATCCATCGTTTCGGGCGCCCTGGACCCGAGCAACGACCTTGT
CGTTTACCTGACGAGTACAGCACTGGCACATGCCCCCATTACCGATCTGATGATTGAGCATGAGCGCCGTTTCTTGCTCATGG
AGGAAGTCACCACGGCCATGTTGGATAAGGA TGGTCCAGCGGGTGCT GATTACCATGCGCTGAATATCCT CGGCAGGAAGATT
GCT GATCTTTTCACAAACGGCAAGCAGGTACCGTTACTTGTCCAAACGGTACTCATTTGACCGCCAGTATTGAAGGTGCTGT
TGGGCGTGCCATCACTGGGCTACCTGTCTGTTATGCGGCCAGGTGGCGGTAGTGGCTGCGCATTTCCGGATGGCGAAACACACG
TGTGCCCGGTGCAAGGAACCGGCGAGGGCACGATTGTTTTTGGATGACCGCTCACTCGGTGGGTGCCCTAGCGGAGCCTATT
ACGGTAACCGTTAAGAA TGGCATGGCCGTGCT ATTGAAGGTGGCAAGCAAGCAGCTATGTGGCGCGAGATTTTCGTAAGCA
CGGCGACCCCTGAAAGCTTTAATTGTCCGGCTGAAATCGCGATTGGGCTCAATCCGCAAGTTAAACAAACGGGCTCCATGCGTA
CCGATAAAAAAATGTACGCAACTTCACACATTGGCCTCGGTGATAACAACAGCCCTGGGTGGTACTTGTAAAGGCGAAGCTTCGA
CTTGAAGGTGTAATTTCGGGAGCCCTGCATCAGCGTCGATGGTGTGTTGGTAACCCGTGGTGGAAAAATTTTAATCGATTAATC
AAAAGTGCATGGCGGTATTTGCCAGTGACTCTTTTGGCCAGCTGAAAGTGGAGAAAAATTATGACTGCCAGTGGAACCACTAC
ATTAACGGGGAATACGTATCACCCGAATCTGAAGAGTATATCCACGAGTTCATCCCAACCACGGCTTTGCCGGGTGACTCAAT
CGCAAGGGGCTCGGCAGCTGACGTTGATAAGGCTGTTCTGTGCCGCGGCAGCGGCTCAGCCTGCCTGGAATGCACGCAAGCCAA
TTGAGCGGGGTCTGATCTCTTCGCCATAGCTCGTTTGGTTTCGCGCCAACGCAGCGGCTTCTGCGCCAAAGAAGCGGAAGAA
ACTGGCAAGCCTCTGAAGATGGCCGCTTTGAGATCGAGGCATGTGCTCAGTACTTTGAGTATTACGGCGGTTTGGCGACAGC
CATCCAGGGCGAAACCATCAACCTCGGCCCGAGCT ACCACGCTTATACCA CCCGAGAGCCATTTGGAGTGGTGGGGGTGATCC
TGCCGTGGAATTCGCCACTGAACCAAGCTG

45>chr1:622704-624342 PP0535-0536-0537

TonB-dependent siderophore receptor- cofactor metabolic process- Predicted transcriptional regulator



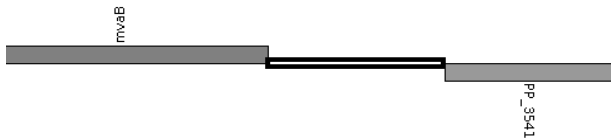
136	-1	CGGAGTAGAAGTTGCT	8.05	codificante
1407	1	TGGAACGCGCTCGCG	9.44	orientacion incorrecta
1491	-1	TGGGCAATTTTTTGCT	8.85	orientacion correcta para 0536. Muy lejos

GGTGACGCCGAAACCACGTTCTTCATCATGCCGCGCAACCAGGCTTCGCTTTGGAGCAAGTACACCATCAGCCAAGGGCCGCT
 GACCGGCTTGGCGATTGGTGGCGGAATTTCCGCGATGAGCAACTTCTACTCCGAAAACGGCGGCGTGCCTATCGACGCGCCGG
 GCTACGCGACGGTGGACGCGATGCTGTCGTACCCGGTGACTTCGAAGCTGACCGCCACCTTCAACGTCAATAACCTGTTTCGAC
 CGGGATTACCTGTGCGCGGTGGGCTCGACCTCCACGTTCAACTTCTACGGGCGGCTCGCGCAGCATGATGGTTGGAGCGCGGTA
 TGACTTCTGACGGGGTCTGTTGCCGCTAGGTGCACCGCGACACAAGGCCGTGCCGTGCAAAGGGCGCGGCCTTGATGCTGAATC
 ATGAGAAATCTAGAAGTGATCTGCACATATCGGGTATCAGTGCAATAAAGTTGTGAGAGTAAGTGTAAATCAGGCGCTTGGTT
 TTAATTCAGAAGTCTCCGAGTGCCATTGATGCTTTATTTCTTGCCATTGGGTGTCTGACAACCACTTGTCTGCTACCGGAAA
 GAAAATATTCTCCTCGGCATCCATATGGTCATAATATTTCTTGATGAAGTCTTCGATCGTGTGCGCAATTACTCTGGCCTCTT
 GCGTTGACTGCTCCAACATCTTGAGCTGTCTGCAATTTCGCTGAAGGCTTTATGATCTTGTCTCAATGGCCATGACCCGTTGG
 TGAATCGGTGCGTGGTGTGTCAGCAAGGCCAGCCGAATAAGCTCTTCATTTTCATGGTGGTGCCGCTCTGCATCACCATGCAA
 GGCTTCCAGTTGCTTAAACAACAGCTTGCAAGTATCGGCACCCGCGAGAGCCGTGCTTTATCCTCTCCAGTAATTCTTTGATCT
 GAGTAATTTTGGTAGCCACCTCATGATGATAGGCGTGCAGCTCTTTCAATAAGGCGTTTATGCTAAGTCTCATCACTACATC
 AAACCGTTACAGATTAAATATAAGTAATAAGCAATCTCCAAGGATGGCCGCACGTGTCAGCGCACATCTGATCGTTTTATTAT
 AGTCTGGCGCGAAACGCTCACCTTCAGAAAAAAACCTCCATTGGAAGATTTCGAAATATCAACTTGATTCTATATGCGCGAC
 GAGAAGAAGCCGACACCCAGAATCGCTTGCGGGCTGAACGTGAACAGCGGGGGGGGCTGAGCACAACGGGAGGTGTCAACCT
 TATGCAGGACGGGGCATTGCCAAATTAAAAAGCCGGCTTGTGGCCGGCTTCTCGGGGACGCTTCCGACTAATTTATGGTAAGC
 CGCAATCGCCTTAAGTGTGTGGCCATCAAGGGCTGAAAGAGATGGCAGATGCCCGTGTGGGATATCGCCGAGCCCTCTGGAA
 CGCGGCTCGCGCCGGTCTGCTTAAATGTGCGGCGTAGCATAACAAGGGCGGGCGCAGGATGCCCGAGCAAAAAATTGCCCA
 TGCTTCAACTGGGCGGCTGCTGGCGGAAATGTGACCAGTGGAACACCCAGCCAAGAATTTCCAGGCCCTGCGCCTGACGCTGA
 GCAGCGGTGTAGCGTTTCGACCGTGTAGTTGCGCCGGTCATGGCTGTGCAGGTACAGGGTGT

**** 46>chr1:4012632-4014105**

PP3540-crcY-PP3541 mvaB 1473bp
 mvaB (hydroxymethylglutaryl-CoA lyase)- CrcY sRNA- Mg2+ transporter

Rho-independent transcription terminator (cadena -) AAGAGGGCAGGAAGCACTGAGGGGAGCCGAAGCTCCCTCAAAGCGTTGTTGCCTGCTC
 Complement reverse GAGCAGGCAACAACGCTTTGAGGGGAGCTTCGGCTCCCTCAGTGCTT



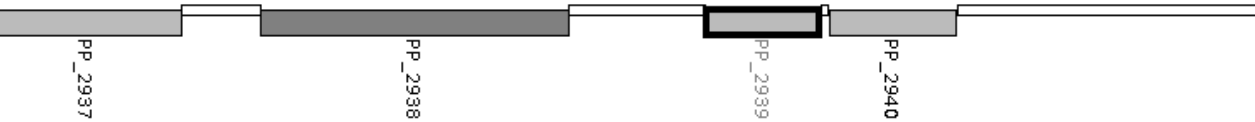
14	1	TGGCCCGCGCCCTGCA	12.14
585	1	TGGCACGCACCCTGCT	15.90
1065	-1	CGGTACTGGCCCTGCT	7.40
1100	-1	TGGCATGGGCGCGAA	7.23

CAGGTGGCCCCGGTGGCCCGCGCCCTGCAACGACATGGGCTGCTACGAGGTCTCGCTGGGTGACACCATCGGCACCGGTACCGC
 AGGCGACACCCGACGCTGTTTCGAGGTGGTGTGTCGGCCAGGTACCGCGCGAGCAGTTGGCCGGACACTTCCATGACACTTACG
 GCCAGGCCCTTGGCTAACGTCTATGCCAGCCTGCTCGAGGGCATCAGCGTATTTCGACAGCTCGGTAGCCGGGCTGGGCGGCTGC
 CCTTACGCCAAGGGTGCTACCGGCAATATCGCCAGTGAAGACGTTGTGTACCTGCTGCAGGGGCTTGGCATTGAAACCGGCAT
 CGACCTGGGCCTGCTGATAGCCCGCGCCAGCGCATCAGCGCGTGTGTTGGCCGCGACAACGGGTGCGGGGTAGCACGGGCGT
 GCAGCGCACAATAGTACACGGGTGTACATTGGTGTGGGTGAAGTGTACCTCCCGCACATTTACAGCAAAAAATCGGCT
 AACAGGAAACAAATCGGCAGAAATTTAGGCTGGGTGGTGTGACCAAAAAATCTTAATCATTATTTTAAAGGGTTTCAA
 AGTTGGCACGCACCCTGCTATATCTCTGGTACAACAACAAAAAACGCGATACCCAATAAAAAACAACAGGTAACGGCTCTGA
 CATAACAAGAACAACACGGCAGAGGCGTAGCAAGCAGATTTTTTTTGGAGTCGACACGTTTTTTCAGGGGTTTCGCCCCGCGGTCT
 GGCACAGAACAATAAACTACCTCAAGGTAGGGGAGCCAGGTTTCGATCAGCAATGATGAAAGCAGGTGAGCGCTCAAAAA
 ATACGTTTGTCTTTGACCCCGCTGGGGGTGCGCCGCAACACCAGGACAAGCCGACAAAAACAACAATAGGCCGGTCCCAATA
 ATAAAAAAGAGCAGGCAACAACGCTTTGAGGGGAGCTTCGGCTCCCTCAGTGTCTTCTGCCCTCTTCTCCTCTTCTGCTTCT
 CCTCATCTCTGCCCTTCGACCTTCTCCACCAGCAACGGCATCGTGCCAGTACAGCAGGGGCGAGTACCGTGTGATCAGCGCC
 GTGGCTTCGCGCCCCATGCCAGCCGCGGTGCCGATGGCAGCCGTATCCATAGCCCGGCGAGCGGTGCTCAGGCCCTTACATG
 ACTGGTGTCTTGCCGTTACCTTCAGAATGGTACCCGCACCGAGAAAAACCGATACCGGCAACGATGCCCTGGATCACCCGAC
 TGAGTGCCTGTTTCATCGGCCCCCGCCATGCTCGGTGCCAGCATGAACAGGGCAGCGCCAGCGACACCAGCATGTGGGTACGC
 ACCCCGGCAGACTTGCCCTTGTGTTTCGCGCTCGAAGCCAGTACTGCGCCAAGCACAGCAGCCATCAGCAAGCGCACAAAGGAT
 TTGCGTCACTCGCGCTCATCGGTGACATCGGCGAATTCGCCCTGGATTGCTTGCCAGATGA

47>chr1:3341044-3343673

PP2937-PP2938-PP2939-PP2940

integrase- OsmC family protein- hypothetical protein- hypothetical protein

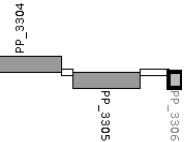


255	1	TGGTCAGGTTTTCGCT	7.51
1089	1	GGGCATGACGATTCTT	7.57
1414	1	TGGTAGCGCATTGCA	11.21
2178	-1	AGGTACAATGGTTGCG	10.71
2551	-1	TGGAACGGACCTAGAA	8.04

CGTAGGTGTGGCGGGTGTCTGCTACTGACGGCGTTTACGGATGTTTACGCGCCTTCAGCGCCGATTGGAAGTGGCGGATTGTAACA
CTTGGCTCGTTGATCCACAGCCACCTTTTGTCTAGGTTGGAACAACGAAGGGGCTAGTCAGGTGGGCCGACTTGGACGCCATGCG
ACGAAGGGTATCCATTCGCTGGGCCTGATTGATGGCGTTCAATGCGCGCTCGTTTAAACAGGACCACCCGATGATGCTTGGTTT
TCGTCGGTCAGGTTTTCGCTTTGGATTGATCGCGTTCGGTTGTGATTATCAGCTTTCGACCTTTATCGGCCTCTCGTGAAAG
AGTGCTCCCCCTCTATTGATAGCGTCGATTGGAAGCCATTGCTAAACAACGGAAGCAGTTGTATTCAAAACATCTAGTCTT
GATGCTTGATAACAGCACTGCACCTGATAGGGAATTGACTGAGTTGGCAATAAAACATTTCGTGGTGAGCATCGTCATGCAGG
CGTCTTGCAAGATCCAGATTGACTGGCTGCTGATAATGACCTGAGGCCTCAACTCAGCGTCTTTGAAATGGCCCTTGCCTG
GCCATCCCCCTTCAAGCATCCGGCCACCGGGTAGTCGACATATTCCAAGACGTTTACGTTGTTGACTGCGCACAGATGAAGAT
ACCAAAGCTTGTGGCAGGCCGAGATCGAGGCCAGCAACATGTCTTCAGGGTTCCAGCGTTTCCAGGGTCCCCGCGAAAGGCGGG
TCGGCAGAGCCAAGGATAGGTGCTTGCCTGGAGCCTCCACGTTGAAGTCTCTCTGGTACGCCGTGTAAGTGGCAGTGCCTTC
ACCTGTGTTTCTATCCAATTTACGGTGACAGCGTAATGGTGTCTTTTCATGGTCACTCCTGTGTGAAAGATGGCCGGA
TCTTGCCCATCGCTTGGGTGCGGTTATCTTGCTCTCGATTGAGGGCTTTCCACCAGCATCTATTGTTTGCAGCGACGCATGAG
CAATCCGAGCACATGCAATGATCCGAATGCAAAAACCTCAACGGAGCCTTCGCCGCCGCTCGATCGCGTCGAGGTCCAACCTC
AATTGTTTCGGCATGACGATTCTTGGCCGCTCCTGCGACCGACCTGTGCTTTAATGGGCGATTGTTGAAATGGATTTTCT
AGCGAGGGATAACGCTTATGTTTGTCTGCTGGAATTGCGCTTCTTGCCGTTGGATTAGGCACTTCAAATCCTGGGCTCTGGATA
CCGGGCGCCGCTCATGGCTGCCCGCATCGTGAAACGAGCAGCAGCTGACCCCTTGGCCGCCCGGTTACAAAAGGACCGCG
CGCGTCCATTCTGTTTACCGACCGCCCTTTGCCAGGGGCGGAGGCGGCTCGCGCACAGCACAGTACAGTGCTTTAGTCGTCTG
AGTGGTAGCGCATTGCAGAACGGTGAGCATACCGGCCTCGAAGAAGTAGACCAGGCGGTGCTCACGGGTGATGCGGCGGGAC
CACAAGCCAGATAAATCGCCTTTCAGCGGCTCAGGCTTGCCAATACCCGTGAAGGGGGTGCCTAGGCACACGTCAATTAGGCG
GTTGATGTTGCCGAGGATGGTGAGGTCCGGCATTCTGCCAGTGACAGTAATCCTCCAGCCCTCCTTGGTGAACCTTCACGCTTA
CCTTGTCGCGGGCTTCATTCTTGTTCCGCTGCTTCTGGTTCTTGCTCATTGAGGTCCAGTTCTTTCGTCAAGGCCTGGCCGTC
CCGGAGCTGAGCGATGGATGAGCGCAAGCGCGAAGCGTTTGGACGATCCCAACAGGTGAATGGTCTCGTTTCATCCCGTTGT
AGTCTCCAGAGACATCATCACTACGGGTTTCGCCACGCTGTGCGGTGATTACGGCGGGCTCATGGTCCCGGCAACATCATCC
ATTGTCTGCTTCAGTTCGGCGCGAGCCTGGCTAAAAGTCAGTACGTGCATTTGTCCATCCTCCAGGCTCTGCCCAGGTAAGG
TTGCTCTTTGACCGCCACAGGTGACGCCCAAAGTTCTAAGAAAGTGAAGCCTGTGACCCGCACGGCGGCTCCGTATTGACT
CACCCTGTTCTCTCAGCTGGATCAGAATCGTCATTCCAGTAGCCACAGACCACAGGTGTCCAGATGGATCCAACCGTCGCTGG
CAACCGCAACCATTTGACCTAACGTTGTACAAGGCAGTAAACCGACTTTCGATTAGGGCGCTTATGCCGTACGGCCTTCAGC
TAGCGCCGCTGATACCCAGTGCCCGAACAATCTGCAGCCAGGCGGTATAGAGCACTCAGTCGGCGAAAGTGGGTACTTCC
CATTCCGATTTTGAGCGTTCCGAAAGGATGCTCAACAGTCTGGCGGCGCACCTTCATCTTCCCGGATCATGTCCAGTCGAA
TGAAGGGGGCTGGTGGTGCGATCACGGCTGTTAAACGAAAAGCAGCTGTAAAAAATGTAACACACCTTAAGCAGTGGA
CATTGGAACAGCGGTGATTCTGTCTCTCCAGTCAAGAATATGAGTTCTAGGTCCGTTCCAATGCGTAATCGCGCAAAATCTA
TTGGGAATGGCCAATTCTGCGTTGCATTCCCGCAACTACGATGAGCGCCTTCCCT

48>chr1:3740472-3742511 PP3304-05-06

Bcr/CfiA family multidrug resistance transporter- TerC family membrane protein- hypothetical protein



78	1	GGGTATGGGTATTGCC	7.13 en la codificante
----	---	------------------	------------------------

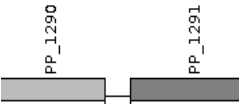
GCAGGTGCATTGCTGCTGGTTCGGCCCAAGCAATCCAAGCTTGGGCTGGTACTCATTGTTCGATGGTGTCTTTCTATG
GGGTATTGCCAATCCGCTGGGAACGGCCTTGACCATGACACCGTTTCGGGAAAGAAGCAGGACTGGCGTCAGCCCTTTGGGCT
TCCTGACCATGGCGATCGGAGCAGTGTGACCTGGATGGTTTCCACGCCGAAGTTCCCCACGATTGCCGTACTGGGTGCCACT
CAAACCTCGGTGTGCTTTCTGGCAATGGTGCTTTTCGCTTGGTATGTCAAACGTAAGGCAATTGTGAGGTAGGAGTATCTCTG
CATGAGGTTTGTCTCTGCTTCGCTGGGATGTGCAAAATCAACTGCATGGCCCGGGCAGCAGCGGAGGCGACCGCTTTACGC
CTTGAATCCTAGGCGATCCGGTCATCGCGCTCACGCAGCAGCCAGCGCCGTAATTATTCAGAAGCATTAGCGGACGCTCGG
GTTTTCCAAAGCGAAAGCAACACGCCCAATCAGCAGGCCGATTGTAATGCTCAACGATATTTCCGCTGGCACTTTACCCAC

AATGTCATGAAGGAAAAATTTTCGAGCCGATAAAGACAAGCACCAGAGCCAGCGCATATTTAAGGTAAACAAAGCGACTGATCA
TGGCAGCCAATGCAAAATAGAGCGCTCGCAAACCGAGAATGGCAAAGATGTTTCGACGTATAAACGATGAACGGATCCTGTGTG
ATAGCAAAAATCGCAGGCACGCTGTCAACAGCAAAATACCAAGTCTGCACACTCAATCAAAATAAGTGAAGGAAGAGCGGTGT
CACCATAAGAATCTTTTCTGACGCATCGGGCAAGCGAATCACAAAGCGTTGAGCGTGCAATTCTTTGGTGATGCGTAGGT
GTGTGCGCAGGTAGTTGACGAAACGGTTGTTTTCCAAGTCAGGCGCATGATCGACGCGAGCGAATAGCATCTTGACCCCGGTG
AAGACCAGGAACCGCGCCGAAGCAGTAAAGTATCCAAGTGAAGTGGGCGATGAGCGCAGCCCCAAGGCCGATCATGATAGCCCT
CAGGACGATAACCCCCATGATCCCCCAAAACAATACTCGGTGCTGGAAGTCCCAGGAATGGCCAGGAACTGAATATCAGGG
CAATAACGAAAACGTTATCCATTGACAGGGATTTTTCAATCAAGAAACCCGTCACATAGTCCATGCTGGCATCGCTGCCTTTC
TGGAAATACACCCAGACCGCGAACAGAGGCCATACTGATGTAGCCCGCGGACAGCAACAAGCTCTCTTTTACTCCAATCTC
CCGATTCCCGCGGTGGAGCACACCTAAGTCAAGCGCCAACAGTGTAGCACAAACAGCGAAAAAGGAAAGCCAAAGCCAGAGGT
CAGTACCAAGAACGTCTTGTTAGAGATACGTACTAAGGGCAGACATGAGCCCCCTCCTGTATAGTTCGTAGTTGAACAACATATGA
CTCCGACATGGCGGTATAACCGTCAGAGGGGGCCCGCGTCACGAATAAAGAATTTATCGAGCGCGAGTAGGCTGCAAGTAGAA
AACATTTACAAATCTTGTTCCATGACAAGCTAAAACGCTTGCAAGTGAAGAACTAAGTTCGCACACCTGATTGCACCAGCCTCAT
GGGTGCCCCGCACGTTATCAACGCATTCATTGGAGCAAAGCGCCGCTCGCTCGCGTCGATCTGATACAGCGCCTTCCGTCGGT
CAGAAGGCACCCCTCCCCCGCACGCCATGCCGAACATAGGGTGAACAATCCAAAAAGGCGTTTACCATGACACCAGCAAAACC
TTTTACGTTACTGCTTGCACTTTGCTTGGGCTGCGCTTCAGCACTAGCTTCGGCCGCCACAGACCTGAACCATCAGCGCGCCC
CAGGCATGCAATCGAACGACAATGGACAAATGAACGGCCAAGGCGCAGCGACTGGCTCGGGAACACCCGCGCATGGCATGGGT
ACGGGTGATGGCGGCACTGACGACAATGGGACGGACAATACCGCGCG

49>chr1:1476482-1478725

PP1290-91

polysaccharide deacetylase- PhoH family protein



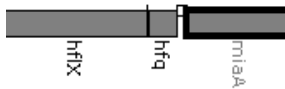
142	1	CGGCAAACGCCTTGCG	9.31	en la codificante
1439	-1	GGGTATCGACCTTGCT	9.62	
2072	-1	CGGCACGGGTGATGAT	8.41	

TGTTCTCTGCTGACCTTTGTGCGCGGGCCCGGGCCCCAGGGGGGCGAGTACGGATCTACTCACCATTACCTGCGCCGGCAAAAG
CTCGAAGGCACGTTCTTACGCTTGGTAACCGCTTGCAAGCAACGCCGTGATGGTGCCTCGGCAAACGCCTTCCAGCTCTA
TGACGGGCAGTGCGTGGGTATCCAGGGGTGGAGTACCGCTCCCATGCGCAGTGGACCGACTGGCAGGATTGCTGCGGCGCA
GCCAGGCGCGGGTGCAAGCTGATCTACCCGAGCAGTATGTGCCGCTGTTCCGTCACCTTATGGCCAGCGCCGGGCTGACGGC
GAGGCGTTTATGGCCCCGCCAGCAGTTGCGGGTATCGTTGTGGGACATCGATGCCAGGATGACGGTGCATTGAGCGCAGAGGC
ATCCGCACAGCGCTATTGACCTGATGTTGTTGTGGCGCAAGGGCGTGATCCAGTTTCATGACAGCCTTCCCAAGGCGCAGC
CGGCGGTGGATTGGCTGCTGCGCAATACCGCGCAAAGCGGCATCGGCTGGGAGGATTGCCGGGAATATGGATACCGCGAATAG
AGGGTATGACTTCTGAGCGTAGTCCCCCTCTGACGCTGGCGCCAAGGCCCTCTTCGTCAATCGGAAAAATAAACTTCAAAAATGC
GTAAAAGTGCTTTTTTTCGGTTCATGGTTTTTTCGGTATGAAGAAACCAGACAGCCGATTCTTGCAGCACAGGTGGCGTCATCCA
GGCCACCTAGCCAGGTTTCGCTTCCCGCCCGTAACAACACGCGGATACGGGGACAGCGGCAGTCACTCTGCGGCCTAACAACGACCA
CGCCGTGTGGCTTCGACATAAGGTGACCGAGTATGGATGACCAAGGACGCAACCCCTTCCCTCCAGCAAGCCAATCCTGTATGTG
CTCGATAACCAACGTCTTGATTACGACCCTAACGCGTTACTGAAGTTCGAGGAGCACCATGTGCGCATCCCGATGACGGTGCT
GGAGGAACTCGACAAGCTCAAGACCGGCAAACAGAGCATCGCCGCCGAATGCCGCCAGGCCATCCGCCTGATAGACCAGACCC
TCGGTGACGCTTCGCCCAGCGATGTCGAGCAGGGCGTACCGATCCAGCGCAACAAGAGCGGCCCAAGGGGTTCTGTCCATC
CTGATGACCCCGCGCAACGAGCCGAACAAGCTGCTGCCGGAACCTCAACGACAACATCATCATCAACCAGTTGCTCGAAGT
CCGGGCCCCGGCGCACCGACCTGGACGTCGTGCTGGTCACCAAAGACATCAACATGCGCCTGAAGGCGCGCGCTTGCAGGTATAG
CGGCTGAGGACTACAGCACCGACCAACTGGTCGATGACGTGTCCTTGTGTCCTAAGGGCTACCATTCCGTACCCGGCTCGTTT
TGGGACCGCGTGAGCAAGGTTCGATACCGGCCAGGAGCGGCGCACCTGGCATCGGGTACAGATGATCGACAACCTGCCAGC
CGTGACGTCACAGAGTTTCATCATCGATGAGCAGGGCTTCGTGCGGTGGATCAAGGGCATTCGTGACGACGAACCTGCTGCTAC
TCGACCTGCACAGGAGCCTTTGCTGCACCAGGAAGCCTGGGGCCTGAAACCACGCGACATTTCATCAAAGCCTGGCGCTGTTT
GCCCTGCTGGACCCCGGATATCCACCTGGTGAACCTGACCGCGCGCCGCGCTCCGGTAAAACCATCCTGGCACTGGCTGCGGC
CATCGAGCAAAACCATGGTTCAGCAAGCGCTACCGGCGCATCATCGCCACCCGAGCGTGCAGGGGCTGGATCAGGAGATTGGCT
TCCTGCCGGGTACCGAAGCAGAGAAGATGGAGCCGTGGCTGGGCGCCATCACCGACAACCTCGAAGCCTTGACATGGATGAC
GAAAGCACCCATGGCAGCGTCGAATACATCCTTGAGCGCGTGCCGCTGCAGTTCAAGTTCGCTGAAGTACATCCGTGGCCGTAG
CTTCCAGCAGAGCCTGATCCTGATTGACGAGTGCCAGAACCTGACGCCGACCCAGATGAAAACATCATCACCCGTGCGCGCT
CCGGGTCCAAGGTGGTCTGCCTGGGTAACTGGCGCAGATCGACACCCCTACCTGTCCGCGACCCAGCTCGGGCCTGACCTAC
CTGACCGAGCGCTTCAAGGACTTCCCCCATGGCGTGACATCACCTGCAGGGCGTGCCTCGCTCGGTGCTGGCCGAGTACGC
CG

50>chr1:5563559-5565316

PP4893-PP4894-PP4895

HflX (GTP binding protein) - hfq (RNA-binding protein) - miaA (tRNA dimethylallyltransferase activit)



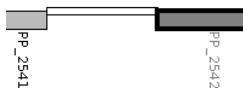
469 1 TGGACCAGGTCGTGCA 8.98

TGGTCCGCGGCATACACCTCGGATTTCGGTCAGGGCGTTGAACAGCGTGGACTTGCCGCGCTTGGTATAACCCACCAGCGACAC
 CGAGGGGATATCCGCGCGCTTGCGCCCGGACGCGCCTGCTCACGCTGGCTGCGCACTTTCTCCAGGCGCGACTTGATCTGGC
 GTATACGCACCCGCAACAGGCGGCGGTTCGGTTTCCAGCTGGGTTTACCCGGGCGCGCAGGCCGATACCACCTTTTTGTGCGC
 TCAAGGTGAGTCCAGCCGCGCACCAGCCGCGTGCATGTGCTCCAGCTGGGCCAGTTTCGACCTGCAGCTTGCCCTTCATGGGT
 ACGCGCCCGTTGGGCGAAGATATCGAGGATCAGCCCGGTACGGTCGAGCACACGACACTCGAACACACGTTCAAGGTTGCGCT
 CCTGACTGGGCGTGAGGGTGTGATTGAAAAATCACCAGGTCTACCTGTTTCGGCA TGGACCAGGTCGTGCA GCTCTTCGACCTTG
 CCACTGCCAATCAGGTATTTGGCGGAAGGTGATGCCCTTGTACCGTGACCAGCGAGACGATGTCCGACCCGGCCGACAATGC
 CAACTCCTGAAACTCCTGCGGGTCTTCGCGCGCCTCAGGGTTCTGACCTTCCAAGTGAACGAGCAACGCCCGCTCACCACCAC
 CGTGCGCTCAAAGAACAATGCAGGCTCCTATCAGGCGTTGGCTGGCTCGCTGTCGCCGTGCTCGCTGTCGGTTCGGGCTTGGC
 AGGCGGACCCGACGGGCCGGAACCTACGGTCGAGATGGCGTGTGTTAGTACCATCTGGCTGACGGTGTCTTCAGCAATACCAC
 GAACTGGTTCGAACGATTTCGATCGAGCCCTGCAGTTTGATACCGTTGACCAGGTAAATGGATACCGGGACCTTTTCTTTTCTCA
 AGGTGTTCAAGTAAGGGTCTTGTAGCGAATGCCCTTTTGACATATGCCGCACCTCTGTAAGGATAAATAATAGAAAATCAATA
 AAATCGATAAATTAGGCCGCCCTTCGCAAGAATAGACGGCAATCAGCAGGGACTCAGCTCAATATGGAGATGGCCCCAAGGT
 ATTTCAAGGTGCGGGACAGATTGTGCGCAGGCCAGGCTGTCAAGCCAGTGCACCTCAGGCCAGCCACGCAACCAGGTGAACTGC
 CGTTTGGCCAGCTGCCGGGTAGCGATGATACCGCGTTACGCATCTCATTTCTCAGTCAGCTTGCCATCCAGGTAATCCCAGAC
 TTGCCGATAACCCACTGCCCGTATAGACGGCAGCCCGCGTGAAGTCACTTCTGGCTCGCAGCGATCGGACCTCGTCAACGA
 AGCCCTGTTCCAGCATCTGCGAAAATCGTAACGCAATTCGCTGATGCAAAATGTGACGATCTGTAGGAGCAATCGCCAAACTG
 GCGACAGTATAGGGCAATGTCCGCCGCGCCTGCGTCTGCGCCGCGACTTTCCGCGAATTGACGCCGACGATGAGCTGTCAT
 GCTCTCGCCGCTCACC CGGTATACCTCCAATGCCCGGATCAGCCGCTGCGGGTCATTGGGGTGGATACGTGCCCGCGGACTCCG
 GGTGCACTTCGGCCAACTGGCGGTGCAGCTCGGCCAGGCCAGGGCTTCAGCCTGCGCTTCCAGCTCGGCGCGCACCGTTCGCA
 TCGGCGGCCGGCATGTGCGCCAGGCCATCGATCAACGCCTTGTAAATAGAGCATGGTGCCGCCGACCAACAGCGGGATCTTGCC
 GCGCGCGGTGATCT

****51>chr1:2885721-2887542**

PP2541-PP2542

transcriptional factor-like protein- GntR family transcriptional regulator



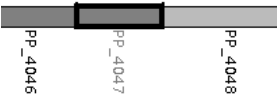
595 -1 TGGCCAACGTTTTTCA 7.71 coherente. Score bajo no GG-GC

GGTCGCGCTCGACGGTGCCTTTGCTGGTGGTATGGCCACGGTTGTGAGGCGAGCCTGCAACTGGGTGGAGCTCATTCCCGGG
 TGGCGGCCCGGCGAGCAACTTGAGCAGTTGCCACTGGCGGGCGATGGTGTGGCGGGTCGGGTGGCTGGGCAAAGGGCTCGTCCT
 TGAGGGCAGGCACGAAGCCCGTCCGGATAGTGGCGTTTAGCTATTGCTCAGCATACCTTTTCCCGGAATGGGATCCAAGTTCT
 CGCACGCGCCCTTGGCTCGAGGCGTGGACGAGGCCCTTTGTGGGAGATCGCCAGCCCCCTTGTACTGCGCCGTGCGCGAGAGAA
 CTCAGCGTGCAAGCGGTGACGCTACCCGGACAAAAAGGGCTGCCCTTGAGATGTATTACGTGCGACTCCGAACGCTTGCAGGCC
 TGTTCAACCATAGGTTGAAACCTGACAGGGGTGTAATTGAAGTCTTTGGTTTTATAGATGTTTTTTTGAAGATTTTGATTTT
 TGTGTATTGTTTGTCTTGTGTTGGCTTGGGTATCGTGCCTGACGGTTCGCTATACGCTTTTACGATTGTTCCGGTTATATC TG
 AAAAACGTTGGCCA AACGACAGTTGCCCGTTTGGTCCAGGTTCTCCAGAGTGACAAGCGATAATGTGTATTTTTTCGTAGCGC
 TCAAAGCTGATTTTTTGGGTGGATAGGTGTTTCGTAAAGTGCATCTGCATCCATTCCGGCGACCTTGGAGTTTTCTCCGTCTGC
 ATAGATAGTGAGCGTTTTCTTTTGGCAGAATCGTTTTCTGGATGTAATAACCCCAAATTGTTCTCCCTCAGCAGAACCTTGC
 CTCGCATATGCCCCGTGCGATCAGAGGCATTTACAGGGTCCCCCGCCAGGTAAGCGTAGCAGTTGATACCACCAGCTCCGAAT
 GGGCTCACTGAATCAGGGTTTGCAATCTCATCAGCATGGGTGTTAGCCGCGATAGCCGTTACCTAATAAGTAATATGAG GT
 AACA GGGTCGCACTACTCTCCCTTGAACCCCGCAAGCATGCCCCCAGCCGCCTGAAAATATCCCATGGACTGAAAACCTACCC
 GTGCCGTGCTTTTGATGGTCAATAGCATCAAGGTCGAGCCTTTCACGTCACATGCTAGCAATTCTGTACGTTCTGTTGCCCGAT
 TGTATTATGTACAAAGAATAGAGCGTGAACGTTAGCTCGCAGAATCGAAGATGCACCGTTGCTTGCAGGAGTAGTGATGATCTC
 ATCATTGCTATATAGATATAACATTTAGCGCTCCATTCTTTGTTTTCTGGTTAATGATGAGTCAATTTATCTGATTGATCAGC
 GTCATGCGCTACTGGTAAAAAAGCCAGGTGTTATTTTACCTTGCCATTGCGCCCCGCGGGGCGCTCCGGGGTGCATGGCTGGA
 AATGATGAAGTGCGGCGGGGAACCTTCGATATGAAGTAAGGGGAACAAACGAGGCGGACAGCGGCGCCCTTACAGGAAGGTGT
 GGCCCCAAACAGATGTGGAGCGGCTTTACATCCCACTCCGCCGCACATGCTTACCAACACCTTCTCCAACAACCTCCACATC
 GCCGGGTCCGTAAGTGAACGCCACGTTGAACCGCATCCACCCGGTTCGCTTGGCGTCGACCATGAACAACCTGCCCTGGGCCTAG
 CATGATGCCTTTCTCCAGCGCATCGTCCAGCAACGCGGCACTGTGCGGAATCGCCGGATGGCGGGTCCAGATGTACATGCCTT
 CATCCGATTCCGTGAACAATTCAAAGCCCAGTCGATGCAGATGCCGGCCAACTTCCTGATGCGCCTCGGCCAGGCGCT

52>chr1:4559026-4560750

PP4046-PP4047-PP4048 (todos en la cadena -)

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein



No s54 No promoters found scoreing over 7

TTGCGCTCGGCGGACTCGGCCAGCAATGCCTGTGTATCAGGGTCGGCAAACCTCCTGCTCTTTTTTCACGGGTCGAGGCGTGTA
ATGCTGCTCGACCATCCACGGGTCGCGCTTGATGCTGTCTGAACGGGTCATAGGCCCTCCCGCACGCTATAAGCCTTTCACCA
AGCGCCAAACACGGAGCGCCCATTTTCGCTCGGCATCTCTACGCCCTGTCATGAATGTCTGAGGCCCTACAGCCCATTCATCA
CATACCCACACACCCGTGCGCGGGCAAATTTACCCGACTTGGCAAGTGCATCCGAATATGGCGCGCTTTGCAGGTGTTTCAGG
GAAGCTTTTGATCACTTGACGCTTGCGAGCATCGTCTACCAAATCCTTCGGGTAAAAAGGAAGGTCTCTGTAGGGTGCATCGT
CGACGCCCCACAGCACAGTGACCAATCCTGCCTCAAATGCCAGTAGCCAAAGAAACCCGCATCGCTTCGTGCTTTGTGCCGA
TCATGCCAATAACAGTTGCGCATGCCTCGATACCACTGCTTCAGGTAACACGCATGCCTGTTGTGCTCATCCTTCTCAGT
ATTTAAAGCATTGAGCAATTCATGATAAGGGCGCTCATGAATCAACGTGCTCCCGGGACAGTCACCCCAACACGAGAAAACA
GTTGTGCGCATCAGGATATCTTCACCGTCATCAGGGGCTTCACTCAAATAGCCTGCGACTTGCCTGATGCGCCCGGGTTTGTG
AACATGACTGCAAAACGATAGAAAGCCAGAGTGTGAATTGATACGCATCAGGCTCCACAGCTTCAAGCTAAAACCCGATAGGC
TTGCTTGTGACGTTGAAATTTGGGAAAAACAGGTGATCTACATAAAACTCAAGTGAGTCAACGGGCTTACCTCCCGAATAAAGAG
CAATGAGTAACCTCATGGACTGAAAGCACCATCTCCAGCTCAACATCTCAACATTTACATATTCGGGACGCTCAACTTCAAGA
ATAGACTCGGCTCGGCGCTCAACATAGTTTTCCCTTCCAAAAAGCAACACTATCAAGATAGGCTGCCTCCTGCAAAAAAGGCTC
ACGTTTGACCTGTTCAAATTTCTGTCATTACACACCCCTAATGAATTACATTACCGACAAATTTTGCATGTTCTGTCGAGCTTGA
CTATTTTCGTTACCACACCACTTTTCATCCACGATCATTAACCAACGCTCATACCCGGAGAATGCAATTTCTTCCGCTGTTTT
TTCCCAAGATCTAAGTCAAGCCTAGGTTCAATCCACGCATCACTCATCTGCCTGGCACTCGGAAACCCCTTACTCCCTTTCGT
AACCGGCAAACTACCCGCGGAAAAACGTGCCCCCGTTTCGATACCTTGGTCTCGGTAATAATAAACGGCGGTGGCGGATGGGCAT
TACGATAGACGCCATCCAGCCACGCCCCGTGGGTTTCATTTCCAGGCTGCGAGGCCCACGCGCAGCGGACAACAGGTTTTCA
TGGCCTTTGCGGAGCATGTAATGATCACTGACCACCTCCCATAAATACCTTCTGCGCCCGGGTCGCCGTCGCGTGATCGAA
CACGTGCACATTGGCGCCATGCGCAGCGATTGTCGGCGACGTGGGCACGGGCGGGCCGAGCGCACCCCTCGGACCGCTCAAGGT
AACGTGGGCGCATGCCGATGCCAGAGGTCACCCGCCAGCACTCATGGCCATGGGCTCCGGCTT

53>chr1:6015436-6018507

PP5266-PP5267-PP5268-PP5269

acetyl-CoA hydrolase/transferase- cytochrome C5- Cro/CI family transcriptional regulator- dadX (alanine



racemase)

Rho-independent transcription terminator: GCCCCCGTTGATGGCGGGC

No s54 No promoters found scoreing over 7

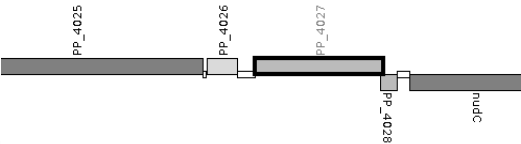
ACTGTTTCGACCCGAATATTGGGTGGCAACGTGTCGTTGCGCAGGTCTGCGAGGTAAC TGAGCTCTTCGTAGTCAGCAAAGACA
CGCTCGACGAAGGGTTCGAGAAAGCGCCGCTGCAGGCCATCGCCAGTGGCGGGCGGCCGAGGGAAAGTGCGGTATAGATGGT
CAGGCGCCGTTTCGGGCAGCTCGCGTACGCGGGCGTAAAGCGCGTTGACGAAGGCGTTGGGTTTTCCCAGGCCCAAAGGCAGGC
CCATATGGATATGGGCTGGCAGCCGGGACAAGACCTGCTCGACAGCCTGGTCGATGGAGCAGAGGTGCATGGGGCCTCCTGAA
ACATCCGTGGGTTTCAGGGGTTGGACATGAGCTCAAGCGGGTTGGTTGCCTAGGGCAAACCTCTGGTCAACCCACCTTACTTTA
AGCGTCTTACTAATTAATAATGAAATACCACTTCTTCGCTCACATGAACCTTGTGATACGCGCTATTATCGATCGCTATCGC
ATTTTTATGAACATACCAATAGTCCTTACC CGGAACCCAGGACTCAGACTCATGCACGTA AAACCCCTACTATAGATCCGTCCT
GGCCTGTGTAGTTGCTGGCCGCATCAATATTCGTTGTGCCATAAACGTGCGCGCCGTAGGATCCATTCTTTTTATAGCCAGGA
TCGAGCCCCTCAACAATGATTTAACATGCTCTTTCTGAGTACCATGCACCATCCTCAATACATAGCCATCCGGCACACTTTT
CGGCGATTTGACCACCTTGATCTTTGTATCGGAAGGTATATCACTGTAGGTCTTGGTAATTACTTCGGTTTTCAAAAACAATCG
CCCCGTTGCAACTTCCCAGACGTCGTAGGCTTTTTCTTTGGAAAAAATACCTGAACAATCGCGAGACAAATTTGAAGAAAGAG
AAATAACCGCTCGGGTCTTCCCGGTTAACCGGGTCTCCTAGGCAGTAGGCATAAGAGTTAGACCACCCGCTGCGAACGGGCT
CATGCTGTCCGGGCTAATAAAGCGCATCAATGATGGGTAAATGCTCGACGACCGTTACCCAGTAGATAACAGCCG **GTAAACA**G
GGTCTGTGCGCCGCCATTAAAGCCGAGCACGGCCTGGAAAAATCGAGAGATAGCCATAAGGCGAATAGGCCAGATGCCGAAGG
GCGCTGCCGGGGATCAGCTTTTTGCGGCTGTGTTTCGACCGGCTGCATGTTGCTCGGGACAGTTATCGCCAGATCCATTGTTAG
CCACCCTTCAATCAGAAGCGTCAGTGTCTTTCAGAACCCTGAAAAATAGAAGTGGTAAAAATGCTAGTTCTCATGGAATCAG
GCTCAGCCCGATTGGAGCTTCTGGAGACATCCATGGACATGGCTCTAGCGGGTTGGTTGCCCTGTGCTGGACCTTTCTCGGGCA
CCACAAAAACAAAGCCCGCCATCAACGGCGGGCCTCATGCAATTACAGCTGTAAATCACAACCCGGACATTTTCTTGATCGCCC
CTTTCAGGTCTTCATCCGAGCAGTCTGCACAGGTGCCCTTTGGCGGCATGGCGTTGATACCAGTAATGGCCTTGGCCAGGATG
CCATCCAGACCGCCCTGGTGGTTCGGCGCGTTCTTTCCACGCGCGGTGTACCAATTTTAGGCGCGCCGAGCAAGCCGCTGCC

ATGGCAGGCGTTGCAGTGCTTGGCGATGATTTTCATCCGGCGTTTTGGCTCCCCCGCCACCCGCTGCAGCGGCCACTTCCATGC
CTTTGCACTCCTGGCCCTGGACGCACACCTGGCCAACCGGCTCCAGGCGTTTGGCAATGTCGTCATTGGTTCGCAGCGGTTGCG
CTCATTTGCCAGAGGGCGAATACGGCTGCTGGTACGGCCAGCATCTTCTTGATTTGATTACAGCGAACACCCTCATGGTGGCT
AATCACGCTCGCGGCCACGGATCGGCGAGCGTTGAAAAGTATAGCGGGAACCCAGAGGCCGTGAAACGACCCACACAGGAAA
GGGGTATTGCCGAATCAATGCACTGCGCTGGATCAAAAAGTTTGAAGGCGTCGCCGCACTGATCAGCCGCGCCGGCTGGTCGAA
TGGGTTGCGGAAGCGGTGCGGGCGGGTGCTTTTCAAGTAGTAGCTGTGCGCTTCTTCGAGAACGAAAATCTCGTTGCCGACCA
CCAGCTCCAGGCGGCCCTTCAAGCAGGATACCGGTCTCCTCGCCGTCGTGGGTGAGCATCTCGGCACCGGTGTCCGCACCTGGC
GGGTACACCTCGGTGAGAAAAGCGATGGCACGGTTGGGGTGCAGCTTGGCCACCAGCTTCATGGTACAGCACCGTCTGAGAT
ATCGATCAGCTCATGGGCCTTGTAGACGATCTGAGTGGGGCTTTGGGGCTCCAGCTCGACCGAAAAGAATTTCGACCATGGACA
TGGGAATGCCGCTAAGCACTTTGCGCAGCGAGCTGATAGAGGGGCTTACGCTGTTCTTCTCGATCATCGAGATGGTGCTGTTG
GTCACGCCAGCACGCTTGGCGAGTTGCGCTGCGACAGGCCCTTGAGCTTGCAGTGGCTTGCAGTCGTTTCGCCGACGTCCAA
AGCTGGAGCCTCCTGAAACGGTGAAGGGGGGTGGATGTGAACGATATCATGGCAATGCCGTTTCAGTATTTACAACACACCGC
CCCCAACCTGTCCGCTTCAGCGTCTCATTCGCCGATGTAGTCCCGTGGTACCCGCTTCAGGTTACAGAAGATCTGATAGGGAA
TAGTGCCCGCATGCGCGGCCACTTCACTGGCCAGCACCTGCTTGCCCCAGAATTTCGACCGGGGTGCCGACAGTGGCTTGCGGT
ACGTCGGTGAGGTGCGATGCTGAGCATGTCCATCGACACCCGGCCGATCAGCTGGGTGCGCTTGCCAGCGACACGACCGGGGT
GCCGTTAGGCGCCTGGCGCGGGTAGCCATCGGCATAGCCATGGCGACCACCCACGCGGGTCGGCCGAGGGCTGACGAACCT
TGGCACCATAGCCAACCGGCTCGCCGGCAGGCAGCTCGCGCACGCTGATCACCCGCGATTGCAGGGTCATCACCGGTTGCAGG

54>chr1:4538043-4539684

PP4025-PP4026-PP4027-PP4028-PP4029

ISPpu15, transposase Orf2- hypothetical protein- hypothetical protein- nudC (NADH



pyrophosphatase)

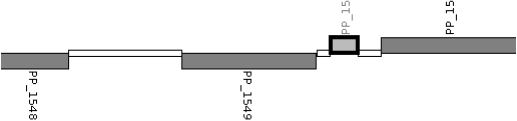
493	-1	AGGAAATAACGTTGCT	8.40
528	-1	TGGCATAGCTGAGGCG	7.37
974	1	TGGTAAAGCGATTACA	8.42
1277	1	TGGCGCGCAGCATGAA	8.67

AGATCTACAGCTTGGTTCGAAACCGCCAAGGTCAACGGCCAAGAGCCCTATACGTGGCTGCGCCACGTCTCTGGAGCGACTGCCG
CACGCCCTCATCGGTAGCAGACTACGAAGCGCTGCTGCCATGGAACGTTCGCCAGAGATGCCACGGTAACTTTGGCTTCCACC
TTGTGGTAGGTGGGGTTCATGGATCGGTTACATATCGTTGGCCTGTGCATGGGCCTGTGCGTGATGGTTCGGCGCCTTTTTTCGG
CGCACGCACGGCGATCAGTGGCGGCAGCAAGTTTCATCCGCCCGGTGTTTCATCACCGTGGTGCTGGCGTTGACCGTGCCTTAG
CGTGGAACACTGGTTTCGGGCAGGCCTGACCTTTTGTACCCGATCATGAGGCCCATCAGCCGTACTATCATTATGCCAGTTG
AGGGGTGCGCAAGGAACTGTAAACATATAACACCTCTTATCAACGAAATATCTAAATGCAAAGCAACGTTATTTCTTACAA
TATACCTGTTATGGCGCCTCAGCTATGCCAGGGAATATTTACGCACCTGGGTTTCACGGGCGCACCTCGCGACATATGGACAGG
CTGCTACCTACTGGGAAACGGCAAGCGTACTTATAACCCGAATTTGATGAGATTCCCTCTCGCCCGATAGCCTAAGCCCTTTCA
GCAAAGGAGGCATAAACGCCTACTCCTATTGCTCTGCCGACCCAATAAACAGGCTAGATCATTCAGGCCAGAGTTGGATCAAG
AAACTGTTTCAGTCGCCCCGAACCTGCTTATAAGATGACAGAGATAATAGCCGCTCACGACCATCCAGAAGTCAAAAGTACTC
GGGGTGGCGTTTCAGCAGCAAGGCAACTGGCTGGGATGTTAAATGGCAAAAAGCTACCAAAACGACTGGCAGAAAAGGCTC
AGCTTGAGCGTGACATACCAGAAGCAGCACAACCTTCTGTCGATAACATCCTCCCAAAGCTGGTAAAGCGATTACAGTATCTC
ACCAATTAAGATCGAAGCCACTGTCAGCAGGCTTACAGAACTACAGTCTGGATTGACACTCCAGAAATTAGCCGCTGTTCTGGC
ACAAAATCCAGGCTTCCACACCGCCGTATTTCCGAAACTAGCCAGAGAGCTTAGGTCTCCCCAACCCCTTTTTTTTCGGGCAA
TGAATACCATACGCAGGCGAGGAGCTCCCCCAAGCGACACCAGATCGAGCATATACCAGTAATCAGAATAACGATTCTCTGA
ATACCCATCGACCCGGTTCGCGCCAGCGACGTGGCGCGCAGCATGAACTTCGTCAGCAACATCGCGGTGCTGACGGTGTTTCAT
CATTTCCGGGCGAGGTGGACTACATCGCCGGCCTGTGCATGGGCTGTGCGGTGAGGGGCGATGAACACTTCTCACTGCAGCTAG
GACGGGAAAGCCGGGATATCACAGCCAGCCGCCGCGCAACATACAGATCGATCAGATAACGGGCAATGGACCGCCCGGCCG
CAGCGGCGGCAAGTCTGAGCGCTGAACCACTTGGCGTCCCTCGATCTCGTCCGGTTGCATGACAATCTCGCCACCGGCGTACT
CGGCATGGAACCGAGCATCATCGAATGCGGAAACGGCCAGCACTGGCTGCCGACGTACTGAAT

55>chr1:1748441-1751484

PP1548-PP1549-PP1550-PP1551

hypothetical protein- Cro/CI transcriptional regulator- Cro/CI transcriptional regulator- phage replication protein



Inverted repeat (palindrome) CTTGCATTTATAAAAGCATGCTTGTTTTTAAATGCAAG

Inverted repeat (palindrome) TCAAGCATGCTTGTTTTGAATATGCAAGCATGCTTGA

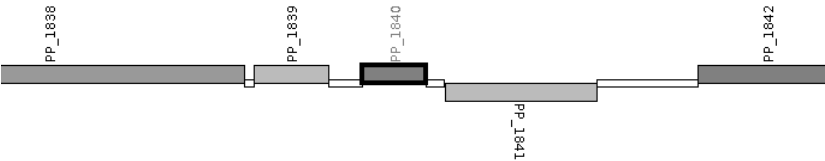
No s54 No promoters found scoreing over 7

CGGGTCCATGGTGTGGACAGCTCCGGCCCCGAAACCCCTTGAGCTGAGGCGTGTGGCGATCAGCTTCTCGGTCTTCTTGATCT
CGTCTTCGCCGATATCGCCGTGCGCAGCGGCGACGTAGAAGGCGCCGTAGACGATCGCCTGCATCAGGTGCGGGTTCTGAACC
ACCTGCATTGCAGCGCGGGCTTTCACGACCTTTCTTGCCGAACAGTTTTTCCAAGCATGGGGTGTGTGCTCCGTGGGGTTGATTTC
CCGCTGCGCCCTGTTGCCAAGGCCAGCCAGTGAATCGGTGTTGCTCAGCAAGCCTGCGGGCCGACATGTCGAGCGAGGAAGC
TTGCTACGTTGCGTAACGTCCACCGAAGCTCAATCGCCGATTAACTCGGCGCCTGGTGGCTCATCTGCTGGTTTTTAAAGAG
CGGTGGCTGCCGGAGCTGCCAGCTCGATGCAAATGCAAGCGAAGCTTGCAATTTATAAAAGCATGCTTGTTTTTTAAATGCAAGC
ACGCTTGTGTAATTTTTCTCTTACTGTATGGATGTCCAGTGTGTAGGAGCTTTCGGATGTGCGGCGCAGGAAAGAGCAGTTCTGTA
TGGAAGAGCTAACGAGCCTTGAGCGGCTGGGCTTGAGGGTTTCAGCGATGATCAACTCGCCGCTGGCGCAGCACGGAAGGAGG
GTTCTCGTCCCTCGCTCGACACGGACAACGATCAGGACTGGGGCGCGATCATGGACTTGCTAGCCGAGTCTGACGGGCTGGA
GATGAGTTTTTTCGAGGATGGATCGGTGCTTCTTCACTGGGATGCGCCGACGGATGACGATCGGGTGATCGAAAGTGAAGAGG
ATGTGAGCTTGGTTGATAGCGATGGGAGGAGGCCCGTTTTAGTAGTTAATCCAGCCCGCTTTGGCGGGCCGGTCACTGTCT
GAAATGGTCGAGGCTTGCATCAAACAGACCTTGCAGCGTTCACACAAGTAGCACCTTTGGCGTGAATTGTACATCGTCG
ATCCTGGCCTGCTGATCCTTGTGTGAGGGTTGTCGAGATCAGCCAGAGGTGATCTTCGTCTTTCGGCTGCAGGCGCTTAAT
CAGAAGGTCACCGTGCCAGGTGAGCACGTAACGCCTTCCCCTGCGTAGTCATTACGCCTCGGTCAACGATTACAGGGTCCT
TGTCATTGATTGTGCCCTTCCATGCTCTGGCCCCATCCGGTGATGATGGCCAAGGACTGAGGCGCCGTGTAGTTACGCCTTTG
TCACGCAGCAAACTTCACTTATTACGACGTTCCTAATGATCTCGTGTATTACAGTGGGACTTGCGCGTGACCCATTGCCGC
CCGAATGTCGTAAGTGCAGGATGAAATATCACCCCTGGTAGCAGGGTTGGCGGCGATCAAAAAGCCGCTTTCCTTCTCGCCTT
GAGGATCATGCTCCACCGCGCTGACTATCCGCTGCTTGGCCTCAGCGGTGAGTCCCTTACCGTGCTTTTCAAGCATCTTTCGC
ACTGCGTCTGCAGCGGAAGTCCGAGTGCTTACCTCTTTTGTGTTGCTCTTGTCTAGCGGCCCTTTGCGTGGTGGCTCACCTT
CCCAGACAAAAGCCAATCAACAGTCGTGTCGTAGCCCTCGGCTAGCGCGACGAGGTTTTCTGTTCTCGGTATCTC
CGGCGAAGGCTGCGGAGCAGCTCATAGCTGATTCCGCGAGGTGTTTCGCGATGTCGCGTGTGACATTGCGAAGCGCCAACTGT
GGGCGACGGGTGAGGACGAGTTTGGTGATTTCGATCAGTAGTTTTTCATTCGCGCAATCTACAAGGTTGCTTGTCAAGCATGCTT
GTTTTGAATATGCAAGCATGCTTGAATGCCCTGGACGAGCAGAGGAGTGCCTATGACCAAGAGCCAGGCAATCCAACATTTTCG
GGTCTATTTTCAGCCCTGGCGAAGGCGCTAGGGGTGACCTATGAGGCCGTCCGCCAATGGGCGGATGTTCTGAGCTTCGCCAG
TACCAAATCGAGCGTTTGACCAAGGGCGCGCTGAAGGCAGGGAAAAGGGATGCCGCTGCGTGACCTTGTAGAAATTTTCACCT
ATCTGGCCTTGCGCCAGTAGTGGGGCCGTCCAGCTGTTTCAGGCATCCAGTAGCCAAACAATGGACGAAAAAAAACCGCCTGGC
AGGGCGGCTTTCTCTACAGCATTAGAACGGGTAAAGCATGACAAACATCGTCCCACTTGACAAGTCCAGGGGGTTTACCCGG
ATGGACAACCAGCTCATGGATGGCCTGCTGGCTATCGATCTCCCGGCCCGGAGATGAAGATTGTGCTGTACGTGGCCAAGGC
CACCATCAACTTCGGTGCAGGCGCTCAACGCATCCCGCTACCGACATCGCGAAAGCCATCCACGCTCACCTGACACCGTGT
CCAAGGCGGTTTCCAGCTGCTGCGTGCCTGTTCCGCGAAGGTGGTGGCCGGGGTGACATCGGCGTGAATGACCCG
AAGGACTGGATTACGTTGATCCGAAACAGACCAAAACAGCCGACTCGGCTGAAGTGGTCCGAATCGGCTCAGAGTCGAAACA
GACCAAAAACCGCGACTCCCTTCTTTATTCTAAGAAAGAAACCCCTATGTAATCTTCCCTCGGAAGAATGATGCCCCC
CCAGCGAGCCGGAGCCGACTCCCGCCAAGGATGAGCGCAAGGCTCCCTTCGGCAAAGCCGCCATGCTGGCCGACAATCCGCAC
GGGCTCGATGAATCCCTGATCGCTGATTACTTGGCTGTCCGCAAGTCCAAGGGCGCCCAATGAGCTCCCGGGTTTGGACGCG
CTTGAACGACAAGCTTCGCCAGTGCTGACCTTCGGTATCCAGCTGCCCAGGTGATGGAATCGTCATCGAGAGCGGGTGGC
GCAGCTTCGAGGTGGAATGGATCACCAGCGATTTCGCCCAAATCGCCGCGACAGGGCAAGCCGAACAGCCGTCATCACGGC
TTCAACGACCGCGACTACACCGCCGCTGTTCCGAGCGTGAGGACGGCACCTATG

56>chr1:2063122-2065852

PP1838-PP1839-PP1840-PP1841-PP1842

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- cytochrome C family protein- amidotransferase



Position	Score	Sequence	Score
484	1	TGGCAGGCGTACGCT	8.43
738	-1	CGGCATAGAACTCGAT	7.25
1433	1	TGGAATGGCCACTGTT	7.80
1500	1	CGGCACTTGGCTTGCC	7.74

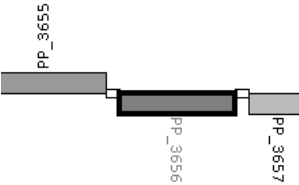
CACGGCACACCGAAGTAAACCGGGGCCGCTTGCGGCCCATTCGCGGGCTTGCCCGCTCCACAGGCAATTGCACAGGGTTTCGG
ACCTTGTGCAGGTCTGTGCGAGCGGGCAAGCCCCGCAATGGGCCCGCACAATTTTCCCGGACTGAACATTATCCCCGCCCC
AAGGTCAGTTATTCAGGCATCACACACCTGGTGTTCGTTGACTGAGAGGGTCCGTTCAATGAAAGAGTGGGAAGTCATTTTTG
CCGACCAGAAGGGCGAACCGTCCGCATTGCTGTTGTCATGCCAGCAGTATGCCAGGACCGTATCATCTCCCCGACCGCACGCTGGCTCAA
TCACACCTGTTTCCGTTGATGGACGAGCTGGACCTCAACGACTTCCAGGACCGTATCATCTCCCCGACCGCACGCTGGCTCAA
AGAGCATAGTGGTGTGACCATCACAGCATTCACGAAGTACCCTGAACCACAGTTTTCGCTGGTGGCCATGGCAGGCGCTACGC
TGGTGGAGGGCTACCTGTTCTGTGGGTGGCGCCGCTCAATAATTTCGCTCTTGATCAGCTCGAAGTCCCGGGCGTTGC
CGGCAGGTGCGTAGTGACAGGAAAGTCTATCCATTGCTTTATTTCAGGAGGACGATTTCATGAGCAGCCAGAACGACGATATCAG
CAGCAACGTCCTGCGCCAGATGAAGGCAGGCGGTTTTCGACTTCACCCAGATCCACCCCATCGAGTTCTATGCGCTATTCCCGG
ACGAAGCAGGGGCGGTCGTGCAGCCGGGCGATTTTCGCGGGGAATCGCTCAATGCCAGGTGAAGGAGCTGGGCGACGGGGCC
TGGCACCTGGAAGTGAAGGTCATGTACGCCACCATGGCGGGATTGGCGACTTTGAAGAGGCCTTCGAGCAGTTGGTGAC
ACCGTATGGGGGTGAGGTGAAGGTTGGGGCGTCAAGCAAGAGCGGCTCACGGCCTGACAGTTTTGTGTTGGCCCGTTTCGCGG
GTTAACCCGCGCTACACATTGATGGATGGACACCACCTGCCGTTGTAGGAGCGGGTTACCCGCGCAATAGGCCCTCAAGGCT

TGCGCGTTGCCATGTGCCCCAAATAGGCCAACAGCGCATCCAGTTCCCTGTTCACTCAACACACTTTTCGGCAAACCCCGGCATC
TTCGCCTGCGGCCACCGCCGAGGCTTTGCGGGTCGCGTATCAACTTGCCTAAATAAACCGGCTGAAAATACTCGGTGCGGTT
ATACGGCACATTCAGTCCGGCCCCACCTGCCCATCCCCCGCACCGTTCAACCGGTGGCACACACAGGCAATTCTGCTGGAACA
GGGCAAAGCCCTGGCGCACCGGGCTGTTCGGCCGCGAGCTTCGGGTGCGGCAGCAGCGAGGAAACCGCTGGTCCACCGGGGCC
AGCTTGCGAAGGTTGGCAATCTGGGAATGGCCACTGTTT CAGGGCGGATGCCGCTGGCCTGCGGCGCAGTCCACACCAGGTAGAA
CGGCCCGGCACCTTGGCTTGCCCTTGACCCAGTGGCGGCCACGGCTTGCCCTGGGTCTTCCACGGCCAACCAGGCCCGTGCTGGCC
CTGGCTGCAGCAATGCCGAGCGGGCATTTTCGGCGGCAAAGCCATCCAGCGCCACGGCCTGCAGGTGATCGCGGGCGCTCACA
CCTTCCAGCAGCGTGGCCAGCGGCACTGCCCGATAGTGCATGGGGCGTTTGTAGGATACGTCTGCTCGATACTGATGTCTCTG
GGCCTCAGGGTGGCCAAGCAGTTTCGGCGCTGCTCCACTGGCGCGTTTGTTCGCGCCAGTTCAAGGTGCAGTTGCGCCGCCGACA
ATGGCAGGCTCAGGAGCAACGCTAGCAGGGCAAGGCAGTGGCGCATAGGCAATCTCCGACCATCAAGGCCAGCAGGTTACCTG
TGCGTTGCCCGTTGGCGCCACCGCTGCCGTGAGCCAAACAAACGTGTGAGGTTTCGGCAAGATCAATAGCAACGTGGTGGCGAA
TAAAATGAGCCAGCTTGGCGAATTTTCGATTGTCTGAACATGGCGGACCGCCTTCTTGTGTTTATTCTCTGAATACCCGTTGG
CTTCTTGTGCTCGCGCTTCGGGTGCATCGCAGCGGCATTGCATGGCGCCGAGTGTCTGCTCTTGAAGTGGATATACCTT
CAACAGTAGGGTGTGCGTTATCCATATTTGAGAACCCTTTGTTCTAACCGTGCCTAAAACCATTCCTCTGGCTATGAGGCCA
AGTGCTATCTAGCTGGCACGCTCTATCTAGACAGTGGCGCAACTACCCGGCACGCGCCGACGAAATGTGACCGTTTCGTGAGTG
CAGCCTACTTGTCTGTACGTGCCTTTTCGCGGCAGTCTCTACAGCAGATTTCCACCCATGTCTGTTTCAGGACTACCCCTATGTCTG
TTACGCATCTGCATCCTTGAACCCGATGTCTTGCAGCCGAGTTGACGGCGCAATATCAGGGCTACGGCAGGATGTTTCGAGCA
GCTCTTCTCGCTCAGCCGATTGCCGCCGAATTTTGTGTGTACAACGTGATGCACGGCGACTATCCCGCCGACAGTGAAGAGT
TCGATGCCTACCTTGTGACGGGCAGCAAGGCCGATTTCGTTCCGTTACCGACCCGTGGATCCAGACGCTAAAGGCCTACCTGCTC
AAGTTGTACGAGCGCGGTGAAAAGCTGCTGGGCGTGTGTTTTGGCCACCAGTTGCTGGCCTTGACCCTGGGTGG

57>chr1:4151715-4154021

PP3655-PP3656-PP3657

cytosine/purines uracil thiamine allantoin permease- aromatic compound specific porine- nitrobenzoate reductase



Rho-independent transcription terminator TGGGCGGCTTCAGAAGGCCGCCCCG

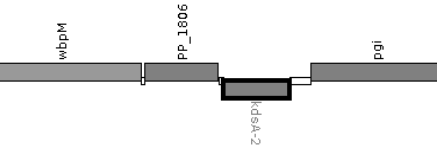
664	1	TGGTGTGTCCCTTGAT	9.87
1357	1	TGGCGCCATCATTGCG	9.65
1576	-1	TAGAACTGGCATTGCA	8.78
1864	-1	GGGGAAGAGGCTTGCA	7.28

GATCACCTCGCCGCTGTACTGGTGGCTGGCGAGCCGAGACAGTGCCTACCGTTCGTTCGGCAGACCAGCGCCAAGCTGGCAGCGA
TGGCTTAA TCGGTACTGGCTTTTCGTTGCAAAAGATGAAACGGCTGGGTGCAGGCGTCCGAACGCCTGGTGCAATTCAGGCGG
AAAACAGCGAACCCTTCGATTGGGAATAAATGGCGAAAAATGGGCCGGCTTCAGAAGGCCGGCCCCGTTTCGCTATTTAGAAGT
TGAAGGTGTAGCGCATGATCAGGCGATTTTCATTAGCGCTGTCAGCGTAGGTCGAGCGGTTTCGTGGAGTTACGCCACTGAAAC
GAAACACCCTTCGCCGAGCACTCTGAATAACATAAGAGATATCAGTGACCCGCTCCCATTCCTTGGCATCCTCCCCGTTGAG
GCGGAGTGAAGCAGCTTGGCGGCTGGTCAGCAGATCAGGATTAACATCATCACCTTTCATGTACCGAGTGGTGAACAGCAAGC
CCGGTACACCCAACCGCGCGAAATCAAAGTTCGTACCTTGCGAACCACACTCGCTCCTCTGGGGCAGTGAATGTACTGACCAAC
GACTCGCCGAACAGATAGGTATCCGTGCCGTTTACGAACGCAACGAGGTGTGCCCCAGGCCCTTCTGGTAACCGCCACCGAT
GGTGTGTCCCTTGATGCTGTAGGCGAAGTAGCTACTTAGCGTTCTGTTGTCCACCTCACCCAGTTTTCCTAGAGCCCGTCTCGC
TGGCATCGAACACGCGAACATCCGCGATCACATTGCCCTTCCCAACGGCTTGATGACTTTAATGCCGGCGAAGTAGGATTTA
TAGAGATCTTCAAGTTCGGCGGCGTGCAAACTGAAGGTCATGTCCTTCGCAGGCTTGAAGTCAAATGCCAGGTAGTTGTAGTG
ATCCGCCTCAACCGGGGCATAGCCAGTGGCTGTGAGTGATTTCGAAATCGGTGGAATTACGCTGCTTCACTGCGTTGATTCTTG
TCGCCGTTACCGTCAATTTATCGATATCGTTGACGGTCAGCGAACCACCGCGAAAGACCTGAGGCAGCAAGCGGCTGTTATTA
CTCCAGGTAGAGGCATCAGAGGGTTTACCCTCCTATCCTCAACTCTGTCTTACCCATCCTCGCTTTGGCGGTGGCCACGAA
CTTACCGTATTATCCTCAACCTGCCTGTTCGGAATCGTAGGCCAGCAGCCCTGATCCCGTTCTGTCCGGGCTGGAATCAAGCT
TCACCCCCAGCAAGCCCATCGCATCAATACCGAAGCCCACTGGCCCTTCTGTAAAACCGGATTGCAGGTTCAAGATAAAACCT
TGCGCCCACTCATCGCGCTTGGACTGAGTGGCGCCATCATTTGCCGAAAATCCCGATTATAGTAAAAGTTCCGGAGCTCAAGGCT
GCCTTTGAAGTCTTCCACGAACGCGGCAGAAAGCATAAAGGCGCGACTAGCAGTGTGCTGAACAAGCCAACGTTTTCCTAAAAG
CAATAGACATCACAGGCACCTTGTCTTGTGTTGTGCTTGAGCATGGTCCGCCGCTAAGCGCGCCA TGC AATGCCAGTTCTAC
AAATAGGTTAAGTCCCGCTTTAGCGGAATGATCGAAACAGTATCACCTGCCCCGACGCCAAACTTGGACAGGGCGCACGCCAG
TTTTTTATTCTGAGTGAAAGGTAGTGAATGCACGCACGGGCTCACGGCCAGTAACCAACGTGTTCTCAATGCTGCCATCATCG
GCATAACCAAGCTCATCCACAGACGAGCATTTGGCTCTTCGGTATTTCCAGCATTTTCAGTGATGATGCTGTGATATTTAAG
GAATGCTGCCTGTGGGAGGTCTGCAAGCCTCTTCCCCGTGCGGCAATCATGAGGCTTTGCAGGAACATGCCATAGTCCAGCA
GGCTCCCTTCTGAAAGCACGCGGTCAATCGTGAAGAACAGGCCTACAGGCGCCCCGAAGAAGCGATAATTCCGGCCGTGTTGC
TCGTGCATCCTTTGTTTATCGCTTCGACTGATGCCCAACAAGCTATAGAGCCCCCACCCTACCTCCCTGCGCCGCTCGATGTA
GGGAGACGTCCACTCCCTGGGGTAATACGCGTAGGGATCAGAAAAGCGTTGGTCATCAGCCGGATGGTCATCAACCTCAGCAA
GTGCTGCGGACAACCGTGCCCTTCATATCACCGGTAACAACATGCACATTCAGGGCTGCAGGTTGACGCCTGTTGCGCTAAAG
CGAGCAACGTTTCAGCATCGCTTCGATTTCCTCTAGCGGAACCTGGGGTTGGGAGGAACGACCTGAT

58>chr1:2029076-2032666

PP1805-PP1806-PP1807-PP1808

wbpM(polysaccharide biosynthesis protein CapD)- KpsF/GutQ family protein- kdsA-2 (2-dehydro-3-deoxyphosphooctonate aldolase)- pgi (glucose-6-phosphate isomerase)



Inverted repeat (palindrome) AGCCGCTTCTTGTCCAGAAAGCGGCT

611	-1	CGGCTTAGTGCTTGCA	9.86
1234	1	CGGCAGGACAGTTGAT	8.19
2177	-1	AGGCACGGATTTTGT	10.95
2600	1	TGGCAAGTACGCTTCA	7.63

CACGTGCGCAGCGTGCCGGCCTTTGCCGACCTGGCAAGTGGCCGGGTCAAAGTGGATGACATCCAAGACGTGGACATTGCCGA
TTTGCTTGGGCGTGACCCGGTACCCGCCAAGGAAGGGCTGCTCGAACGCTGCATCCACAAGCAAACGGTACTGGTCACCGGGG
CCGGTGGCTCCATCCGCTCCGAGCTTTGCCGCCAGATCATAGGGCTTGGGCCAACGACATTGCTGCTGTTTCGACCACAGCGAG
TACAACCTCTACGCTATCTCAGTGAGCTGGAGCAACGCGTTGCGCGCAGTTCGCTGCCGGTGCAGCTGCTGCCATTCTGGG
GTCGGTACGCAATCAGCAGCATCTTGCCACGTTATGTCCACTTGCGGGGTAGCCACCGTCTACCACGCGGCGGCTTACAAAC
ATGTGCCCATGGTTGAGCACAACATGGCGGAGGGTATACTCAACAATGTGTTTCGGCACGCTTTGTACCGCACAGGCTGCTTTG
CAATCAGGCGTTGCCAACTTCGTGCTTATCTCGACTGACAAGGCGGTGCGCCCCACGAACGTGATGGGCGGTACCAAGCGTCT
TTCCGAGTTGATTC**FGCAAGCACTAAGCCG**CGAGGCGGCACCCGTCATGTACGGTGACAGCAGCAAGATCGCCCGGTGAACA
AAACCCGCTTCACCATGGTGCGCTTTGGCAATGTGCTGGGCTCCTCTGGCTCGGTGATCCCGTTGTTCCACAAGCAGATCAAG
GCCGGTGGCCCAATTACGGTTACCCACCCGAAGATTACCCGCTATTTTCATGACTATCCCCGAAGCCGCTCAACTGGTGGTTCA
GGCAGGGGCGATGGGGCAGGGCGGGGACGTATTTGTTCTCGACATGGGGGAGCCGGTAAAAATTGTTGAGCTGGCTGAGAAAA
TGATTTCATCTCTCGGGCCTTAGCGTACGTAGCTCGGGTAACCCCAATGGTGATATCGCCATCGAGTTCACGGGGTTGCGCCCA
GGTGAGAAGCTTTTTGAAGAGTTGTTGATTGGCGATGACGTTTCGCCTACCGTCCACCCGATGATCATGGTAGCGAATGAAGA
CTACGTCACCTTGGGACGCTCTTGCGTGAACGTATTGCCG**TGTTAC**TCAATGCAGTGGCGGTGGATGACTTTGGCCGTATCCGGC
AACTGTTGCGTGAACCTAGTGAACGGGTATGTGCCGGAAGGAGAAATTGTGCACTGGATCTACCAACAGCAG**CGGCAGGACAGT**
TGATGCCGCGTCCCGTTGAAGCATACCTTTTTTGTAAATGAGTTAAAGA**GTGAAGATGAACCATCTTGATATCGCCAAAGAAG**
CCCTCGTTGCCAGGCCAGGCGGTGCGCCAACTAGCGGATCGTCTTGATGGTCAGTTCCAAAGCGCGGTGATTTGATTCTT
GCCTGTGAAGGGCGGACAGTAGTTTGTGGTATGGGCAAATCCGGCCTGATTGGCAAAAAATGGTCGCTACTTTTGCCTCTAC
CGGTACGCCTAGCTTCTTCTGCAACCGGCAGAAAGCTTTTTCACGGCGACCTGGGGATGCTCAAGCCCGTTGATGTGCTGGTGC
TGATAAGTTACAGCGGAGAAACCGAAGAGCTGATCAAGCTGATTCCAGCCCTCAAGTCATTTCGGCAATAAATTTATTGCGATG
ACCGGGAGCGGCAACTCCACTCTAGCCAAACATGCAGACATTTGGCTTGATATTTTCGGTGGATCGCGAAGTTTGTCCAAATAA
CCTAGCGCCTACCACGTCCACATTAGCCACCATGGCCATGGGGGATGCGCTGGCAGTGGCTCTGATTACCGCGAATCAGTTCA
AACCGATGGACTTTGCCCGTTACCATCCCGGCGGAAGCCTTGGTGCAGAAATTGTTGACTCGCGTAGCTGACGTAATGCACTCG
CCGGCACCGATTGTTTCGCCAGCGAGCAGTTTTCAGAGCTGCCTGCTGATGATGACGCAAGCCGGCTTGGCTTAGCCATGGT
GATGGATGGTAATGAACCTGTGCGTATTGTAACGGATGGCGACCTGCGTCGTGCCTTGT'TAAAAAATAACCAGGTTATTCATG
CCTCTGTAAGTGAAGTTGATGACGCTGAACCCCCACACCATTCAGCGGATTGCCGCGTGTGCGTGCCTGAAGCTTACATGCTG
GAG**AACAAAAATCCGTGCGCT**TGGCGGTGGTGCAGGATTGCGGGGCTATTTGTTGGCGTGCCTGAGATTTTTCAGCGCAATCCCGT
AGCGTGAAACAGCCGGTAATTATCGTTGCCTGGGTAGGC**AGCCGCTTCT**TGTCC**AGAAGCGGCTTT**ACTCACCGTCGTAGATT
AGGCAATAGTCAATTGCGGGAATGATTTTACCAGATCATCCAGCGCTTTGATTTGTGCCAGGAAGGGTTCCAGCTTGTCCAAT
GGCAGTGCCTCGGGCCATCACACTTGGCCTGATCAGGGTTTGGGTGGGCTTCCAGGAACAGGCCAGCCAATCCGACTCCCAT
GCCGGCACGTGCCAGCTCTACCACCTGCTCGCGCCGACCGCCAGAAGCCGCACCCGATGGGTGCGGATTCTGCAGGGCATGAG
TGACGTCAAAGATGATCGGCAGATCT**TGGCAAGTACGCTTCA**TGACGCCGAAGCCAAGCATGTCCACGATCAGGTTGTGCTAG
CCCATGCAAGTGCCCTGTGCGCAAAGGATCAACTGGTCATTACCCGCTTCTTGAACCTATGCACGATGTTCTGCATCTGCGA
AGGGCTGAGGAATTGGGGCTTTTTGATGTTACCCGGCTTGCCGGTTTTTGGCCAAGGCAACAACCTAGGTCTGTTTGACGGGCGA
GGAATGCCGGCAGCTGCAGCACATCGACGACTTCCGCCACCGGGGCCGTTTTGGTAGATTTTCGTGAACGTGCGTGATTATCGGC
ACGCCAAATTTCTGCCTTACCTTTTCAAAGATCCGCAGCCCTTCTTCCATGCCGGGGCCACGGTAGGAATGGATCGATGAGCG
ATTGGCTTTATCAAAGCTGGCTTTGAACACATACGGGATGCCAGCTTCTGCGTGACGCGCACATATTCTGCACAGGCAGTAA
GGCCAGGTCCTTCAGACTCGAGCACGTTGATGCCGCCGAATAGCACAAAAGGAGCCGAGTTGGAGCATTCGATTGTGGAGTTG
ATCTTGATCATTTTTACTCGATAGGTCCCTTAGGGGGCAACCCGAGGACATGGCAAAGGGATAATAGTCAGCGCGCCCTTGC
TAACCGTGTTGTGCCGATTCTACAAATTTTTCTGTGCTGCTTTTCGAGCATGGCGAGGCTGCCAGGCGTTTGTGAGCGGTATTTT
GCGCGCATGAATGCGGCTTTTCCCTTTCTTGCATGCGGCTTGCCTATAATGTGCGCGACGTGGAACCTGACAACGATTGAT
AGGTTCTGCTTTTACCCGTATCAAGGATCTTTTTTGCAATGGCGTTCTACCGTACACCTCACGATGTCACTGCTCTGCCAGCCT
GGAAGGCGCTTCAGCAACACCGCGAAGCCATGCGAGGCTTCAGCATGTCCGAAGCCTTTGCCGCCGATGCCAAGCGCTTCGAC
CAGTTTTTCCCTTAGCGCTTGC

59>chr1:2123237-2125115

PP1886-PP1887

hypothetical protein- hypothetical protein



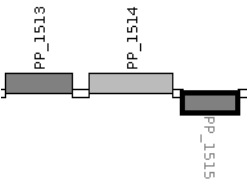
No promoters found scoring over 7

GTCTAATGGCGACTGAAGGGCAGGGGCCGAGCCCGCAGCGCCACGAGGTGCGGAGGACCGAACCATCCGCCTGCAGATGTTTCT
TTGCACCGCCGCGGAGCCTCTACGTCGGAAGTTTTTTTACGCCGTTTCCAGGCAAGGACCGGGCGATGGTTCTACTCGAACGA
CACCCGTCATCAGAATGCCGAGATCGAGGTCAAGGTACACACGCCGACGCCTACAAATCCACAGACTACACATTTACCCGCA
CACGGGCGGCGGGTGGCGGTGGTAATTCGGGCTCGACAGATCCGGAGCACGAAGATTTTCGACCTGCACCCGGAGACCGACGAT
TACTGGATGTTGAGCTACAACCACGGGACCTTCTATACCGCCGAATTCGTCAAGGCCAAGGAAAGTGATAACGACAGGGATGT
GAATACCTCGATGGTGCCTGGGAAAAGTTCTTTTCTGGAGAGTACTATCGCAGTTACACAGGGTATGTTTTTCAGGGCTACA
ACGAGCCGCTGCCGAAGTTTGTTCCTTTGATCCCGATTTCGAAGCCTTTGATCGATGGCGTTCGAACGTGAAGTCAGCTCGGTG
TACCAGCCCGGTCTTTTGCAATTGTCAATTACCGTCGGCGGGATCTGCCCTTTTAATCGTACAAGCGATCATAGGGCTCTCTT
TGAGAAGCTGAGTAAACCGTTACGCGTTCAGTTGCGCGATGCTCACGCTAATTTGCATATTATCCAGATCGATTATCTGCCCCG
CTGACACCATCGGTGATCGTAATATTCTGGCCACACGCTCCCTCGCGACCGACGGGCAGACAAACTTCGATTACCCGGCTT
AGTAATTACCAAGAAGGAGAGCACGTATGAACGCCATTGTCATGGCAGCCCTTGTGATCGGTATGTTTTCCGGCTTCCACAGT
GTGGGCCAGGCAGCGACTGAGCCAGTTCTGTCAGGTACGATTACGCTCGCCGAGAATATGGAAGCAGGGCTACCCAGTGGCAA
GCAATGTACGGTCTGTGGGGTGGCGGGTATGCCTGCACCCCTACAACATGTCAAACACCAACTGTAAGAATGATACGATTAGCT
ACTTCAAATTCATAATGTACCCCTCAACGACAACGGTGACGTTTAAGTCCGATGGCTGCAACGATAGTAACATGACTGGAGG
TTTGTCTGTTAAAAACAACAAACACCGACTACCACGGGTGGATGAGTATCGAAGAGCTCAATGCGCATCGTGAAGGCGACCC
GGTGACAGCGGGATTGGAGCTTATTAAGCATGTCTATAATCATGGCAATATCAAAGGCAAGCTATCTTGTGTGGTCATTCTGTG
TGCCGGCGGGCGAAGTAGGGTCTAGTGCGCGTAAATAGTCTCGATTCTTTGATGGAGCCAAGTGATGAGCACATCCACTTCAG
TGCATTCCAATGCCTTTAATTTTTCTTCCTATATAGAAAGCGGCGTTGATCCTCGCACCGGGCAATACACCGTGTCTGATCAGG
CTGCCCGAACTGCAAGGCAATGATTTGCAAGGCCAGGTTTCGAGCTGGCCTTGTTCACAGCCCGTTGAATGGCGAGGACTC
TGGATTTCGGCAAGGGCTGGAACCTGCAACTGACACAAGTACGCAAGCACATCGTGACGCTGAGCAGTGGTGAACGTACAAGA
TTACCGGTAAGTCTTCGGTTACCGGGCGGGCTGGAATGAAAGAACAGAAGCTGCGGCAGTTCGATCTGTATGAGGATCCCCCT
GGGCCCCGGTGGGGCCGCACGTTTTCGCGTGGAGCACCGCTCAGGGTTGGTCGAGGTGCTGGAAGTGATGGGCTCGGGAGAGGG
CGAGGTTCGCTTGGCCGTGGAGCTGCATTCACCGCTGGGGCACAGGTTGCAC

60>chr1:1717824-1719750

PP1513-PP1514-PP1515

hypothetical protein- hypothetical protein- TetR family transcriptional regulator



Position	Strand	Sequence	Score
502	1	CGGCAAGATAGTTGCT	12.59
559	1	TGGCCTGGTGCTGGCT	10.48
1191	-1	TGGAAGAATACTTTCT	7.73
1489	1	AGGCAGAAGTTGGCT	7.38
1662	1	AGGCAGAAGAAGTGCT	8.15
1905	-1	TGGAAGAAGTGCTGCT	9.68

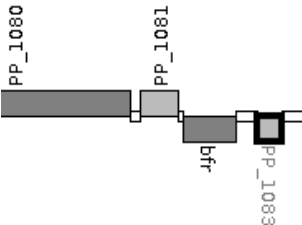
CGACCCGATGTTTCCACACCGCGACAAGAGCGCCCTGGTGAAAAAGGAAATGCGCGTGTTCCGGCCTTTGGTGGGCGATGACC
TGGATGCCCCGGCGCTGCTCGAAGCCGCTCTGGCGCTGGCCAGCCACCGGGTGGTAGTGAAGCGCCCACGCAAGGCACCGATC
ATCGACGGGCCGAAGCCGAGCCATAGCCTTGAGGGTAAGTTCGAGCCGGTATGACATCTACCCGAAGAAGGCCTTGAAGGCCTG
ACCTGCCCCCTATCTGGCCGGCTAGCACGATTTGTAGGAGCGGCTTTAGCCGCGAACACCGACAACCGCCGGTGCCATCCACTGCG
TCGTCTCCTGCGCGTTAAACCTGCTCCTACAATGACCTGTTATTTCTGCCAGTAGTCATTAGTTGGCTAAGGGCGCGATCCTA
ACGGACATTTTATCCTGATGGAGGGTAATGTTTCATGTCGCTGCTCCTTATGCCCGGCAAGCTGGCCGCCAGTTTTTTTACTG
TAACTGGCAAGATAGTTGCTGAATTGAATGGCGATGCCCCGCTGGCGTTTCTTTTCAGGCTAACTGGCCTGGTGCTGGCTCAGAAAG
ATCACAGTTCCTCGGGCTTGTCCAGCATGCTGGCGGCATCCGACCAGCAGCGCTCGGTCTTATTCATTTATGAAAAGAAACGC
CTGGAATCACAGGCTTACTCGCCCTATGGGCATCACAATCAGGGTAGCGGCTTGTGTGCTTGTCTTGCCTTCAGTGGCGAGCG
GCTGGATACGAGTTCGGGGCTTTACCATCTGGGGCATGGTTACAGGCCATTACAGCCCGGTCAATTATGCGCTTTTGCAGTCCGG
ACAGTTGGAGCCCTTTTCGGTAAAGGTGGTTTCAATGCGTATGCGTATTTCGTTGGGAGATCCTGTGAACCGTATCAGACCCGACG
GGCATGTGGAGTTAGGGTGAAGGTCAAAGAAAACAATCAAGGCCAAATAGACCCGTGCAGAAAGTAATGGAGTCTAACTC
TCTAGTGTGCAAGGAAAGAAATCTATAAGCGTAAATGGGGCTGATCGTATCATACCAGAGAGTAGAGCAGGGGTTGGAGAGGATG
TTTCATTTGAGTCATTATTCAATTCGCACGAAATCGCTGAGCAGCATCGTTTGTTCGCGAGTTTAAACGCACCTGCGAGAACA
TCTTCAGAAAAGCAAGAAAGTATTCTTCCAATCGCATGATTACAGTCCGGATGTTGAAGCCGGAAGCGCTATGCTCAATCGTT
GAGTGATACACAAGGACTCGCTCGAAAAGTGAAATCAAAGCGCGTGATTTGAAAGATCTTTTAAGTGATTTGGATGCGGTAAATG
CTCGTATGTCCGCGAGCGGGATCCTCGCGAGACCTAATGATTCAGCCGCGTTAATAGCAGAGATCAGAAGGCGTCCCGCATAA
ATGGCTTGGGTGTGATGAACTCTATATCAGCTACCTTCTGCGTGCCTCACGTAGAAGGCAGAAGGCAGAAGGCAGAAGGCAG

AAGTTTGGCTAGTGAGCGATTGAAAAAGTATTAATGAAGATTTTTC TCAGTCCCTAAACGCCCCGTAAGAACACTTTTACCACC
TCGCGCACATGTGCCTCGGCTTCATCGCCTTCCAGCGGCCCCGCACATCCCAGCAGCAACCGGTAATCTGGCGCCCCCTTGAC
CAGGCAGAAGAAGTGCCTCCGCCGCCCTCAATGGGTTGTCGATGCGCAGCAGCCCGCGCTCATGTGCGCCGCGCAGTAGCGCTT
CCATGCCCTGCGAGCACGCGCTTGGGCCCGGCTCGTAGAAGTACTCGCCAAAACTCGGGTCCAGGCTGCCCTGGGCCATGATC
AGGCGGCTGAGCTTGACCGCTTCGTCACTGCTGATAAGCGCCTGGAAGTTGCGGGCAATGGTCAGCAGCACTTCTTCCAACCGG
TACCCCTCGGGATACT

61>chr1:1241473-1243057

PP1080-PP1081-PP1082-PP1083

molybdopterin dinucleotide-binding region- glutaredoxin-like protein- bfr (bacterioferritin) - BFD (2Fe-2S)-binding domain-containing protein



Rho-independent transcription terminator CATAAAAAACCCGCGATCAGCGGGTTTTTTATG
Rho-independent transcription terminator CCGGACCTGGTGTCGGG compl reverse: CCGGACACCAGGTCCGG

No promoters found scoreing over 7

AATGGCGTACCCGTGCAGGTTCGAGGCCGCTTGAAGAACCGCAAGGCCGAGCACGGCGCTCGGCTTTCCGATACAATGCGACAC
CGTGCCGACGACTGTGTCTCGGATAGTTCAGCCGAGGTGCTACATGGATATCATCGAAACGATCAAAGAGCAGATTGCCAACAAAC
ACCATTCTGCTTTACATGAAAGGCTCGCCGAATGCCCGCAGTGC GGCTTCTCTGCGCGTGCATCGCAGGCCGTGATGGGTTG
TGGCGAAAAAGTTCGCCTACGTCGACATCCTGCAGAACCCGGAATTCGCGCCAACCTGCCAAAATACGCCAACTGGCCGACCT
TCCCGCAACTGTGGGTAGCCGGTGAGCTGGTTGGCGGCAGCGACATCATGCTGGAAATGTTTCGAGAAGGGTGAGCTGCAAACC
CTGATCAAGGACGCGGCTGCCAAGGCCAAGGCTTCTGAAGCCTGATCTTCCGGCAAGCATAAAAAAACCCGCGATCAGCGGGT
TTTTTTATGGGGCGAATAGTTACTCTTCGCCCATCTGCGACTGCAGGTAGTTCTCGATACCGATCTTGTGATCAGCCCCAGT
TGGGTTTCCAGCCAGTCGATGTGCTCTTCCCTCGGACTCGAGGATATCTTCGAGCACGTACGCGAGCCGAAGTCGCCAGCGGT
TTCACAATGGGCGATGGCGGCCCTCAGGTCGACCAGGCCCTTGCTGTTCAATCTTCAGGTCACACTCGAGCATTTCTTTGGTGT
GCTCGCCGATCAGCAGTTTGCCAGGTCCTGAACGTTAGGAATACCTTCGAGGAACAAAATACGCTTGATCAGTTTGTTCAGCG
TGCTTCATTTTCATCGATGGATTCTTTGTACTCGTGCTTGCCGAGTTTGTTCAGCCCCCAATCTTCGTACATGCGTGCGTGCAG
GAAGTACTGGTTGATCGCGACCAGCTCGTTTCCGAGGATCTTGTGAGATGCTGGATGACGCTTACGTGCGCTTTTCATGTCGG
GTTCTTGCCTGTAGAAGTGTGTCAATCCACTGAAGTTTGAGCCCATACTTAGGTGTGTCAAACCTAAGTTCTTGAATACTA
AGTGAAAAATTAATAGGAATAAGAAATGTTTGTGAACCGCGTTGCAACGCTAACTTGTGTAATTGCGGGCATAAAAAAACCGGAC
ACCAGGTCCGGTTCTTGAAATTCGTGCGTTCAGGCAGCGGTAAATTCGACGGGGTAGGGCAAGGCCGCCTGGCTGACCTGAAGC
TCGGTCAGGGTCTCGCGGACCACCTGCTTGGCCACGCGAGGCGCATTTCCACACTGGCTGGCGACATTGGTGGCGGCTCGCAC
TTCCTTGTAAGTGCAGCATCCTTCATAGATCGCATCGCGGATCTGTCCGTTCGGTAACGCCGACACAAAGACACACATACATAA
GGGCTGACCATCGCTGGTTGGGTGCGATGGGTTGGAGCTTAATGTTAATGAGAATGCTTGTCAAAGATCTTTCTGAGGGTGCTG
TGCTTGAGCGACCGGTGGTCGCTTTGTGTCAGCGAGTCGGCCTGTATGAGAAGCCGTGTATGATGGTTCGGCCTTTGTTGGATG
TCGGGCA

62>chr1:3838218-3839882

PP3388-PP3389

hypothetical protein -Hypothetical protein



430	-1	CGGTATATTAAGTCT	9.17
459	-1	TGGTACTATGTTTGGT	7.93
533	1	AGGAACAGCCATTGCA	13.02
644	1	GGGAACACAAGCTGCT	8.43
756	1	TGGTGCAACGTAGCT	8.51
1478	1	TGGCACCCAGCCGCA	9.03
1509	1	TGGAAATGGCCCTGCT	8.46

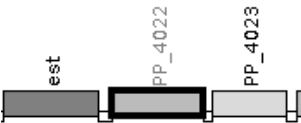
CACGTAGCGGGCAGCCCATCAACCCACAACGCGCAGGCCAGGTATCAAGGTACCTCGACCAGGCTTGGGCTGAAGGGTTG
ATGCAGGCCCGGAACAGTGACTTCTACAAAGTGCGTGTCTTCTGGGCTGGTGTGCCCTGCTGGAGGGGATGCTGATGGCCTTCAA
AGCGCGCAATTGCCTGACAGTGATGCGCGGGTGAAGACCGAACTTCTGGCGGCCGCGATGACTACGGCTGCGGCGGGCTTCG
AAGTTGGAGCCAGTTACGTGGATCAGGTGGTCGCGCGGTACGGCGCGAACAGTGTGACCGGACGAGGAGCAGCGGCCGCTTTA
GGGCGTTTGAAACTATGGGGCGCCAGTTTAGCTGTGACAGGTGGTTTTCGTACTCGCTGGTGGGACTTCGCCGATGCGGCTCA
GCAGTTAATATACCGCCAGCAAAACCTTACCAAAACATAGTACCAAAAAACCTGGAACGCTGGCACTTGCATACGCATCGCGGG
CACTGGCAACTATTACAATCTCGCTGGCGGAAGCAGGAACAGCCATTGCAATCGCAAAACCTCTTTTTGACCATCTATCTCAG

AATGCCAAAAACAAAACCTTGTGAGAATGATGACAACATCCATGGGCGCGCTCGCCAACAAACTGGGAACACAAGCTGCTCGCCT
ACTGCTTGCACGTTTAGTATTAGGTGCATTTTTGGATCGGAGTCATCCTGACACTCATAATCTACATTCTGGAAGATGACGCTT
TAGAGAAGTGGTGCAAACGTAGCTGCTTCCGAACTCATAAAAAATATCAAACCCCTATGAAGAGCAGGAAGAACTGAGTGCCCTA
CACACTGCTATCGGCGAGGTTTTATAATGTATCTTATCGAATGGGGATTCTGGCAGATGGCAACTCAGTCAGAAGCTGCACGT
AGAACGTACGAAGCAGGATGACACCAGCAGAAAAGCGCGCAAATAGAGATTTTTATGAAGGCGACCTGAATGAAGAGATTCA
CTTTTCCCGGGTAAGTGAAACACCCCTCATACGCGGCCCTGTTTATGCATTCAATGAAACCCACATGGAATGCGCTGTGGCG
GCTCAGAAGAGAAGCGCGGCCTCATTACGCTAGTCACGATCGGCGGGGTGCTGCC'TGGGATAA'TTTCGGAACCGGCATAGCT
GTCGGTTCCATCTGGCTTGATATCACTCAACCTTATTCAATCTCCTTTATAGCAGTCATACTTACAGCTCTATTGGCTTCAGC
TTCAGGCGCAGCATTGTATTTTTACCTGAAGTACGGCGTAAAAATCTCGCGACTGGAAATGCTGACCAGTCGGCATCTACTCA
TTCGCTTCAATCGTATAACTCAACAGGTCCACCTCCACC GCCCAGCTACTGTGGTGGCATCGTCACCTTCCCCTGGAAAACA
ACCGGCAGCACGGGCATTGCCCCAGAAGATGATTGCTAAGCGTTGGAGTAAGACTCGGTCTAATCTGGCACCCCGAGCCGCAC
CGGCCTGCCCCACA'TGGAAATGGCCCTGCTCGGCAAACAAGGCCAAGGCGGCAGCGAACTGCGTGATGAGTGGGAATTCATCC
GCCGTTACATGGAAGAAGGCCCGCACGCCGTCCCCCGCCCCCGCTGAGCACCCAGCTACCCTCACCCATCCAGGCATTGAGC
GCCC

63>chr1:4534219-4535857

PP4021 -PP4022 -PP4023

alpha/beta hydrolase- hypothetical protein- hypothetical protein



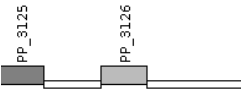
611	1	AGGCCAGTTTTTGCT	12.34
929	-1	TGGAACGCTTCGAGCA	7.21
1531	-1	TGGAAGTGAAGCTTGT	9.66

GCCGTTCTACGGCTACAACCGCCCTGGGGTCGATGCCAGCGAAGGCATCATCGGCAACTGGTGGCGCCAAGGCATGATCGGCA
GTGCAAGGGCCCATACGATGGCATCGTGGCGTTTTTCCCAGACCGATTTTACGAGGACC'TGAAGGGCATCCAGCAGCCGGTG
CTGGTGATGCACGGCGACGATGACCGATCGTGCCCTATGAAAAC'TCCGGGGTACTGTGTCAGCCAAGCTGCTGCCCAATGGCAC
GCTGAAAACCTACGAAGGCTACCCGCATGGCATGCCACCACCCATGCCGATGTGATCAATGCGGATTTGCTCGCCTTCATCC
AAAGCTGATGTGAACGCTGCACGGGTCTTTTTTGCAGTCACTAAGTCCTGTTGAGAGACCCGCTCCCCCATGAGCCACTTGGT
GGCTTGCACTGCACTTAGGGGTTTGAAACTAGCATTTTCTACCAGTTGCTCATCCGGGCAAAATACGATGAGATCACTCAACTC
ATCCTGAACGTGTTGACAGCCATGCTCACATTCAAACAAACACCTGACTCAGCCGCCTCCCTGACTAATGCCCTTCGTCACTT
CGCTTACTCATGCTACGGCTATAAACCACAGGCCAGTTTTTTGCTCGCTACGGGTTTCAACGGCCAGTACATTGACCTTTTTTT
CAGGCCACTACCAGCTTGGAAGTTACCGTACCTACAACACCGGCCCTCATGAGATTCCACTCGCCTGACAGCGATAGCCCTTTC
GACGGGGGTGGGCTCAACGCTTATGCATATTGCTCAGGAGACCCATTAAC'TACCATGACCCTTCAGGTCATGGTCCAGTTTT
GTCCAAAAAATCTTTTTTACCAAAAAAGAAAACGATCATGCAGCGACGCGAGGCGGCGCTTAAAGCAATCAATGAGAACCCTG
TGCTCGAAGCGTTCCAAGGCATTGCCGAGAACAGTGTTATTAATAAAGAACTGAAAACCCCTTCTGACACAGGTAAAGCCCTG
AACCAATTCACCGACTTAATGGAGAACAACCTTATCAGCATAGACAAACAGGGACAAC'TGAAGTACAAGCTAATGGACGACTT
TGAGAGCTTACGATTTCAAAATCCTGGAGGACGAAGTGATGAAAAATGACAAGACAT'TGAACAGTCTTTTGTGTCAGCATACCCTC
GAGCCAACGAACCTGAACCAAGTCTATCATCAGCTTCATTATCACCCGCTACAAAAAACAAATTAACCAGAACGCAAAAGGGA
AACTGAAGCACGAATCGGGCATATCGGACACTGACAGTGGCTGCTTGATGGCATTACCATAGCCGCTAACTGTAGCGTTTTGT
GCTGCCGACCAACTGCCTGAAGCCTCCCATGCCCTTCGAACTCACCGTAGAACCCCTTACCCTCCTCATCCTGGCGCTGGTCG
CCTTCGTGCTGGATTATCGACGCCATCGCCGTGGCGCGGCCCTGCTCACCCTCCGGCCCTGCTCACTGCCGGCATGCCG
CCGACCTGGTACTGGGCACCAACAAGCTCAGTTCCA'CCTTCGGCTCGGCCACTGCAGGTTTACCTACTACAAACGCAAACT
GTTCCATCCGGCGCAGTGGCGCCCGGCATTGTTTCGCCACCCTGACCGGGGCGTCGCTCGGC

64>chr1:3536646-3538960

PP3125 -PP3126

Cro/CI family transcriptional regulator- polysaccharide export protein



1312	-1	GGGCTGCCATTTGCA	10.31 no
------	----	-----------------	----------

GATTGGCCAGCGCAGCCTGCTGCCGTTTCTGATTGAGCCGCCGTCCGAGTTGAGCGACCCTACGTTCAAGGAACACCAGGGCG
AAGAGTTCTCTGTTTGTTCACACAGGCCAGGTGGAAGTGGATTTCATGAGTGAGCGGTGT'TGCTGGAGCAGGGCGACGCCCTG
CATTTCAACGCCCAGACACCCGACCCGGCTGCGCTCGGTAGGTGTGACGCCGGCGCAGTTACTGGTTGTTGTTTACCACGCAGA
CGAATGAAAGCGCAAGGGGGCAACTATGCCCCCACACGTTCTCAGGCGTGAAACGCCAGGTTTCATCGCAACCGCCCTCCCTT
GCATAATCTGCATGTCGTTTTTTTACGAATGCGCCCATGCCCATTGAATTTTTATTATGGTGTGCGATCATTGACGTAGTGT
CATTGTGCCCATAAAGCTCAAATCAAATACGAAACAACCCCCGACGACCGCATTAAATAACTCATTGATTTTCTGTTTTTAGG

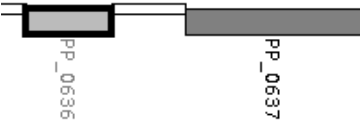
CAGTGGCGCACGCTTCGCGCTGGCGGTGAGTGGTGTGGCCGGGCCGGACGGCGGCTCGCCAGCCAAACCGGTGGGCACTTGTTG
GGCTGGCCTGGGGTGATGGCGATCGGGTGTTTCAGCGAACGTCGGCAGTTTCGATGGTGACCGCGAGGCGGTGCGCCGACAGACG
GTGATCGCCGCGTTAGACGGCTTCTGTACAGCTTGGTGCCGAGTAAATCGACGACAGGGGT'TTGC GCGGGCGTCTGCCTG TCGA
ATAATACTGGCTACTTATACAGGTAT'TCCGGCCGT CAGGGCCAAGTCGAACACGTGAGGAT'TTCAATGGACGAC AACAAGAAG
CGCGCCTTGGCTGCGGCCCTGGGTGAGATCGAACGCCAATTCGGTAAAGGCGCGGT CATGCGCATGGGTGACCATGAGCGTCA
AGGCATTCCGGCCATCTCCACCGGCTCGCTGGGGCTGGATATCGCCCTGGGCATCGGCGGTCTGCCAAAAGGCCGTATCTGTCG
AGATCTACGGCCCGGAATCGTCGGGTAAAGACCACGCTGACCCCTGTCTGTCTATCGCTGAAGCGCAAAGAACGGTGCTACCTGC
GCCTTCGTCGACGCCGAACATGCCCTTGACCCCTGAGTACGCCGGCAAGCTGGGCGTCAACGTCGATGACCTGCTGGT'TTCGCA
GCCGGACACCGGTGAGCAGGCCCTTGAAATCACCGACATGCTGGTGCGT'TCCAACGCGGTGACAGTGATCAT'TGTCGACTCCG
TTGCCGCGCTGGTACC GAAGGCCGAGATCGAAGGCGAGATGGGTGACATGCATGTGGGCCTGCAGGCCCGCCTGATGTCCCAG
GCACTGCGTAAGATCACCGGTAACA TCAAGAACGCGAACTGCC'TGGTCATCTTCATCAACCAGATCCGTATGAAGATCGGTGT
GATGTTTCGGCAGCCCGGAAACCACTACCGGTGGTAAACGCCCTGAA GTTCTATGCTTCGGTCCGTCTGGACATCCGCCGTACCG
GCGCGGTCAAGGAAGGCGACGAAGTGGTGGCAGCGAAACCCGCGTCAAGATCGTCAAGAACAAGGTCTCGCCTCCGT'TCCGT
CAGGCTGAGT'TCCAGATTCTTTACGGGAAAGGTATCTACCGTAACGGCGAGATCATTGATCTGGGGGTATCTCAGGGCCTGGT
CGAAAAGTCCGGCGCCTGGTACGCCCTACCAAGGCAACAAGATCGGTCAAGGCAAAGCCAAACGCTGCCAAGTACCTGGCTGAGA
ACCCGGCTAT'TGGTGCCGAGATCGAGAAGCAGATTCTGTGAGAAGTTGCTGAAAGCGGGTGCTGCTGCTGAAGC CGGCAAAGCT
GCTGCTGCTGCTGAAGCTGATGCCGATGACATGGCCGACGCTGACGCCGGT'TATTGATTGCGCAGTAGATAGCCGAATATGTC'TGC
CGTACTCGACACCCCCGTGCGCATCCGGCGGACAGCCATGGACCTGCTCGCACGACGTGAGCACGGTCGAGTCGAGCTGACGC
GCAAGTTGCGTCAGCGCGGCGCTTCGGACGAGCTGATCGAGCCTGAACTCGATCGGCTCGCCGAAGAAGGGCTGCTTAGTGAA
GCCCCGTACCTCGAGAGTTTTCAATTCGTTATCGTTCCGGCTCTGGCTATGGCCCTGCGCGTATTCGCGAAGAGCTGTGTACAGC
TGGTTTGGCGCGTGCA GATATCGACCAGGCCCTGCGTGAAAGCGGAGGTGAAT'TGGAGCGGACGCTATGCGCGACGCTGTGGCAGC
GCAAGTTTGGCGGCGAGCGCCCGCAAGATCCGCGCAGCCGACGACGCTGAGTTCCTGGCTTACC GTGGGT'TCCCTATG
GACATGATCGGTCTGCTCTGCTCAGCGGGCGTGATCTCGACGATTATTGAAAGCTCGAAACCACAGTGGGTGGCACGTGCCCGTAG
CGGATAATCTGTTTTGTCAAATGCCCCCGGCTGTCTCCATTCCATACATAGGAGCGGGTTTACCCGCGAATGCGGTAGCGGC

GCACGGCGAATGACCAGGGAAATTGGCCAGCAGGTCAGGCCCTTTTCGCGGGTAAACCCGCTCCTACGACGGTCTGCGTACAA
CAACCCGATCAGGTGCAGGAGCAAACAGCCTAAGGTTGCTCCTGCAGGTATCACGCGAGCTGTTACAGAAAAGCACTCAACTCA
CTTTCAGCGCCTGCCTGGCCCTCTGCGTGATGTCATGGGTTGTGGCTTGGCCAGTTCTCCGGCAGGTTGATGAAATCCACC
AGCTCACGCAAGCGGCCCTGATCCCGCCGTTGAAGGCGAATGAGAGCGGGTCAGGTGGCTGTAATTGCCAACTTCGTGCTC
GGCACTGCTATCC

****66>chr1:743398-745117**

PP0636-PP0637

cold shock DNA-binding domain-containing protein- ISPpu15, transposase Orf2

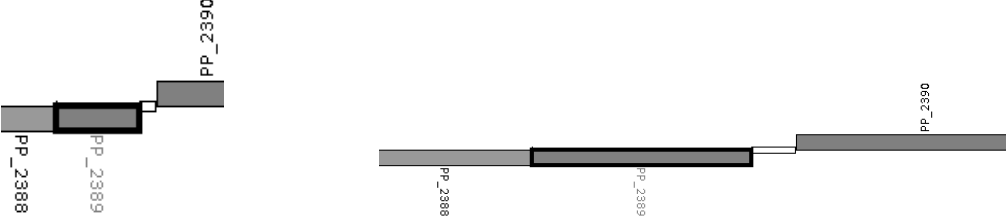


1140 -1 AGGCATGTTACTAGCA 9.81
1407 -1 TGGCATTGTCAATTCA 7.52
ATCAGACCTGCCTTGTGTGCCCGCTATGTGAAGCAACCTTCGGTTGCGTTACATAGCGGACACACAGCGTCGTGACTTGCCGG
GGAAACTACTTGGTCGCGGCGTGTGGAGCAGAGACTGTAGGGGAGCGTTGACAGTGGCGGTTTCAAGCTAGCTTGGCGGTCAC
GCTAAGCCGAGTGAGGCATTCGATCCTGCTAGCGACGCATTTGCTTAGCTAAGGCCACAATGGCGAAGCCCAGGATTTTCATG
AATGTGGCCGTCCAGCTCAGGAGCAGAATAGCTCCGTGTTTGAATGCTCCGGGTGGTACCAGGCTGGTTACGCCGGTATCCCA
ACCTGCGGGCTGGGCGTTTTCATTTTCGATGCGAGCTAAGACATCCCGCTCCCACTGAGCGCAGTTTGTATCCAGTTCTGAT
CCGTGGTGGTCACGATTTTTTGGACATTCGCGTAGTCTCCTGTGAAACGGTGCACGGTGTAGTGATAGTTGGAGCAGCCATCA
CTGCGACTGTACTTTTCGAGGTGTACATTCAAGACGGCGTTGCCCTCCGCGCTCCATGCTTGTCTCTCTAGTAGAGCCCCGTGC
CTCATTAGGATTGTTTGAATTCAGCCCAACCACTCCCAAAAGTGAAAAATGGTGTGCGAAACACAGTGCCTTCGAATCTCTTGTCC
ATATGAAATGATTCGGAGACTCGTAGGCGTAGCCTGGAGGCGGTGGGCGCTCCCTTGGTTTGACCTTCACTGCTCTGTATCCT
TTCGGACCCGCTGCCCTTCAAATGCTACTGACTGCCCATCGAACAGCTCTCCTCCCTCTACGTTTTTGTGTGGACAAAATA
GCTGCGTCCATCATCTCCTTGGATGAAGCCAAACCCCTTCTCAGGCATGAAGCTGCGCACGACGCCTGAGGTGAGGGTATCTT
CCTGATCTGGTTTCTCGCTCATGAACCTGCTGTCTCTTTTGAAGGCAGCCATGGTATCCCAGGGTATCAGGTGTACCACCG
AGTAACTGTCAGGAGTTTCGGTTGTGAGGCGAGGGCGGTATCCTTATGCTGACTCGACTACTCGCGGACTTGGTTCAATAACAT
GCGCAAAATCTTATCAATGAAAAATGGATTTATTGAAAATCCCTTTTGCTAGTATTTCTCCCCGATGAAGAGAAGGGTAGAAGAATTAGT
GTGCTTGGGGTTTCAAAGGGGATGTATTTGGCGTTTGGTCTGGTTGGCTGTAAGGAACGACTTGTATCTGTTGGTGGATCAAGT
TACTAGGGGTGATTTGCTGTTGCGACCTGTAGAAGTCTCTTCTGTTCCAAGTATTTATGATATTTGAATTGACAATGCCA
GAATTTACATTCTGGAAGCAAGGCAGGCAATGCTGATTGATCAGATGAACAGCCTCCAAATCGATATGGCGAAATTTAAGGAA
GCTGTGCGAGCTAACATGGCTTAGAAGTAACCGATCCATGAACCCACCTACCACAAGGTGGAAGCCAAAGTTACCGTGGCAT
CTCTGGCGAACAGTTCCATGGCAGCAGCGCTTCGTAGTCTGCTACCGATGAGGCGTGCGGCAGTCGCTCCAGGACGTGGCGCA
GCCACGTATAGGGCTCTTGGCCGTTGACCTTGGCGGTTTCGACCAAGCTGTAGATCTGC

67>chr1:2727175-2728743

PP2388-PP2389-PP2390

amino acid transporter LysE- hypothetical protein- LysR family transcriptional regulator



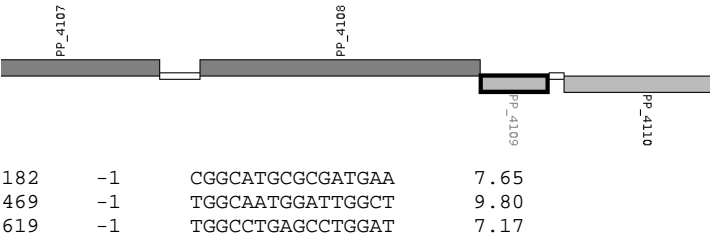
1300 1 TGGCGCAAGAGCTGAA 8.53
CAGTTGGTGCCGACGGCGGTGAACATGGCCCTTGCAGGAGCCGAGGCGGCCGAGTGTGACGATCAGTGCCACCACCGGGCC
GGGAGTGGCGATCAGTAGCAGCACGGTGAGGGCGTAGGTGGCGGTGAGTGCGGTATTCACGGTCAGTTCTCGATCAGTATGTC
GGGTGTGCGCTGGTGTGCGGCATGGGCGTGGAAGGGGCAGCGTGACGGGTTGAGCGAGCCTGCCCTCTGCAGTTGATACTGCT
TCCACTCGTAGTTGTGCGTATCGCCGAAAAAGCCAAGGGTGTGCGGCACAAACGCCGTCGTTGTAGTGTGCACGCGCTCGCGA
ATGCGCTCGCGGATGCGCTTGCCTCTCGGTGTTGGCGTTGGCCACTTCGTGCGAAGTTCTCCCGGGTGTATGACGCAAGGT
GATGTGCTGGCCCAAGGTTGCGGCTTTTCATCTGCTGGTGGCCGGGAAGTTTCATGTTGATGAACAGCGGATGCCGCGCATAGC
AGAACGACCAGCCGGTATCGTCCGGATCGTCCGGATGCCCTTGAAGGCCAAGGGTGCAGGTCGCGCGCATGCACGCCGCGCAGT
ACCTTCCAGGCCAAGGCCCTGCTGCTCGGCCAGGCTGCTGCCGGCTGCGGTTTCGAGAAACACCACCAAGGGCTGCCGATGCG
CTGCTTGGGTGCGATCGGTGCGACGGTGCGCACATAGTTGGCCAGGCCCTGCGCGATATCATCGGCCAGTTGCTCGGCGCGGG
CGAAGAGAATGTGGCAGGTTTCGCCGTTTACCGCTTTCGCGGCCGAACAGGCAGGGGAATTCGGGGTTGGCGAGAATACTGCGA

AAGTGTCTATGGTTTTGAACGTCCAGTGTTCATGGTGTGACCATGTTTCAGCGGCGAGCTCCAGCGCATCCAGGCGATAGCA
ATTTCCATATCCCGTAAACATGATTTCCCCAGGCGTTGATTTAAGTGAACGTTCCAGTCACATGCAGGCAGGATCTTGTTTAT
GTTTGTATTATACCGGCATTTTCCGAGACGCTCTTGTGCTGTTGTAACCGCGTGGAGTTATGACCTACTATTAGTCCTACTCAT
GCTCGGGACGCCGCCATGTTCGGAACGGATTACAGCCCTTGACGCGTTACGTGCCTTCGAGGTGGCCTCTCGCTATGGCTCTTT
CACCCGTGCGGCTGAAGAGCTTGGCCCTGACCCAGGGCGCCGTACGCCACCACATCAAGACCCTCGAAGCCCTGTTTCGGCTGCG
ACCTGTTTCGAACGTGCGGGCCCCGAAGCTGAGCCTGACCGAGCACGGCCGCCCTGC TGGCGCAAGAGCTGAAAGGTCGGTTTCAAG
ATCATCGAGAATGCCTGCGCACTGCTGCGTCAGGATCGCTACGGCCTGCGCCTGAAGGCGCCGTCCACGCTCACGGTGCCTG
GCTGCTGCGGGCGCTGGATGCGTTCAAGAAGGTCGAGGACAACGTCAGTGTGCAGCTGTCCAGTGTGTGGATGGATATCGACA
GCGTGGATTTCTATTCCGAGCCCTACGACTGTGCCATTCTCCTGGCCAGCGGGCGATTTCCCGCCGATATCGAG

68>chr1:4642694-4645203

PP4107 -PP4108 -PP4109 -PP4110

LysR family transcriptional regulator- class III aminotransferase- hypothetical protein- hypothetical protein

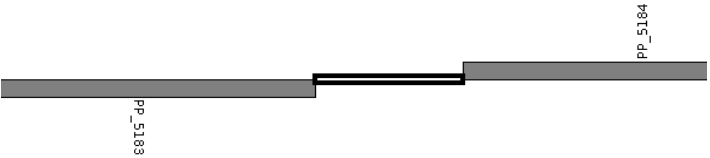


GAACAGCTACCACGGGCGCGCTTCGACACGTTCTACCTGTGTATCCGCGCGGCCATCTCCGGCTGCGGCATAGCCCTGATTCC
CCCGCTATCTGGTGGCCGAAGAGCTGAGCGAAGGCAAGCTGGTGGTGGCCTGGGACCACCCTGTGGCAAGCAACGGGAGGCAC
TTCATCGCGCATGCCGAGCATGCGGCCGAAGTGCCCAAGATCAGGGCCTTCGTGCAGTGGATCCGGGAGCGGGTGGCTGAAGG
CGATTGATTTTGACCTGCCCCGGCCTCTGGCAGGAGCGGGCTTGCCCGCAAGAGGCGGCACAGCCAACCCAAAAAACCGGCT
AGATCACGAATCCATGGAATGATCGCAATCGAATAATTGTTTGGCGAATAACCCGCCGACACGCTTGATAATAAGAACTC
GAACAAGGTCCGCGTGCCCCATGAACCAGGAAAGTATCAGCCAAATCCATTGCGCATCGTTTACCCGATCACACTTTCCCATGGC
CGTAATGCCGAAGTCTGGGACACTGACGGCAAACGTTACATCGACTTCGTGCGCGGTATCGGCGTGCTCAACCTGGGCCACTG
CAACCCCGCTGTGGTCGAGGCCATCCAGGCTCAGGCCA CCCGCCTGACCCACTACGCCTTCAACGCGGCCCCCACGGCCCGT
ACCTGGCCCTGATGGAGCAACTGAGCCAGTTTGTGCCAGTCAGCTACCCACTGGCCGGCATGCTCACCAACAGCGGCGCGGAA
GCGGCGGAAAACGCCCTGAAAGTGGCCCGTGGCGCCACC GGCAAACGCGCCATCATCGCGTTCGACGGCGGCTTCCATGGCCG
CACCTTGCCACCCCTGAACCTCAATGGCAAGGTCGCCCCCTACAAGCAGCGGGTTCGGCGAACTGCCCGGGCCGGTGTATCACC
TGCCCTACCCAGCGCGGATACCGGAGTTACCTGCGAGCAAGCGCTCAAGGCCATGGACCGCCTGTTTCAGCGTCGAGCTGGCG
GTGGAGGACGTGCGGGCGTTTCATCTTCGAGCCCGTGCAGGGTGAAGGCGGCTTCCTTGCCCTGGACCCGGCCTTCGCCCAGGC
CCTGCGCCGCTTCTGCGACGAGCGTGGCATCCTGATCATCATCGACGAGATCCAGTCGGGCTTCGGCCGACCCGGCCAGCGCT
TCGCGTTTCCGCGCCTGGGCATCGAGCCCGACCTGCTGTTGCTGGCCAAGAGCATCGCTGGCGGTATGCCGCTGGGTGCAGTG
GTCGGGCGCAAGGAATTGATGGCGGCGCTGCCCAAGGGCGGCCCTGGGTGGCACCTATTTCGGGCAACCCGATATCCTGTGCGGC
GGCCTTGCGCCAGCCTGGCGCAGATGACCGACGAAAACCTTGCAACCTGGGGTGAACGGCAGGAACAGGCCATCGTCAGCCGCT
ATGAGCGCTGGAAGGCTTCGGGCTGAGCCCGTACATCGGCCGCTGACCGCGTGGGCGCCATGCGAGGGATCGAGTTGCGC
AATGCCGATGGCAGCCCGGCACCGGCACAACTGGCCAAGGTGATGGAGGCCGCCGAGCCAGGGGCTGCTGCTGATGCCAG
CGGCAAGGCGCGGCACATCATTCGCTGCTGGCACCGCTGACTATCGAGGCCGAGGTGCTCGAGGAGGGGTGGATATCCTCG
AGCAGTGCCTGGCAGAACTGAACTGAGGCTTACAGGCCGAGTTCTTCCGGGGTAAGCATGTGCGACTCGAAGGCGATCCAGCC
GCCTTCCAGTTTCGGCATGGCCGTTGACGATCGGGCCGTAATAGGTGAGGCCGTTTCTCCAGGGTTACGCAAATGTGCGTGGCCG
GTTTCTCAGGGGCGCGAGCGTACCGACGAAATGCACCTTCTTCAGGGTTTCGGTCACCGCTTCCAGGCCACGCACATCTTG
GGGTTTTCCGAAGCCTCGGTATCTCCGCCACGGTCTTCGGCGCTGATGGTCACAGTGGCGATGTACGGGTACTTGGTGCTCAA
ACGGGGTTACCTCGGTGGGTGTATAGGCGTACGGGCGCGTAGAGTACGGCAGGCCGCTCTCTGTTGTCTCTACTGGCCTCTTCG
CGGGCACGCCCGCTCCACAGCGATCGCATGTTGCTTGGGGTATGCAGGGCACCTGTGAGGGGCGGGTCTGCCTGGGAAGAGC
CGGGCCTGCAACAGGTGATCTGAATGCCCCGATCTGTTAGGGTGCCCGCCGATGCACGCCACACCACAGAGGATCCCGAGTG
AGCGCCGAAGAACCCTGATCGCCGACCGTTTCGAAGTCGACAAACGCCCTGTCCCTCAAGCCCGTCTGTGGACTTCAACAGCTAC
CTGCGCAATGCCCTTCGGCGAGGGGCCATGCCGCTGCCACCGCTGCGTAGAAGGTGCCGACCAAAGCACCTACAGCCACGCGCA
CAACTTCACCTTCGAAGGCCCGCAGTGGCACCGCCGGTTCGCCAGCACCGCTGGCAGCGACGTCGCCCAGGTGTTGAAAAAG
CCTGGCTGTGCTACACCAA

** 69>chr1:5911752-5913905

PP5183 -PP5184

glutamine synthetase- glutamine synthetase



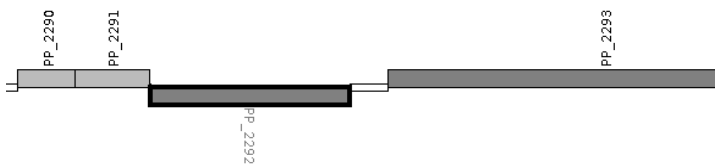
417	1	TGGTCCGCGACTTGAT	10.77
650	1	TGGCACTGCGCAGGCA	8.71
855	-1	CGGCAGATTGCTGCA	7.75
866	-1	TGGCACATCTACGGCA	10.84
1106	-1	TGGTGCGCTCTATGCG	7.01

GCCCTTGTTCGGCGTATAGCTTTGAGCACTTTCTTTCAGCACGTTGCGCGGCGACAGTTTCGACCGGGTTGCCCTTCTTGTCTAGG
 TGTCTGTGGATGACCTGTGCGGTTCGGCTCGATGGCCACGGCACGAGGAACACAGCGTTCTCGTCAGGGCGGCAGATCATGTCTG
 ATGTCTGCCGGGTCGAGCAGTTCGTAATAGATGTCTGTCTGACGTAGTCGCCGGTCACGGTCTGCAGCAGCACGCTCTCGGG
 CAGCCGCATGCCTTTTTTCAGCGATGAATTTGTTGGTTGGCGAAATCTTGCCGCGCGTGATGCCGGTCAGGTCGCTGATCATGC
 ATTCGACTTCCGGTGATCTTTGTGCTCTTTCAACCAATCGGTGAGCTGGTCGAGGTTCGTTACTCATAAATACCTCAGGAGGTAAG
 GTCGTTCCGCGACTTGATTCCTGGATGGAGTCGATTGCTAAAGCAAAACCCACGCGCAGAGCCACAGTGGATACACTGAAATCA
 GCTGTGTCCGTAATGAGTTCAAAGGCAGGAAGGTGAAGCGAAAGGCGGCAAGCCGCTGCGAGGACCGGTCCGGGAACGCGAA
 ACGTCAATTATTGCGGCCAGGGCGACCACGCCATTGACGAAGCTTGCAAAAACGACGGATGTACCCGATGGCACTGCGCAGGC
 ATGCTTTTCAGGTCGCGGCAAGCGGACCATGTGACCCTCGTATTATTGTGTTTTGGGTTGAAACCGAGCTTAGCCTTGTTCAT
 TTTTTTACACAACACCTCCGTAAAAAATAAAACACGGCGCACCGGAGATAGCCCTTTACCCGGGAAATAGCGGATAATGGATT
 GCCCCGATAATGTCAGCAAAATCTGCGCTAGATGTGCCAATTCAGGGCATCATGGGGTCGGCTTGACATCAGTATCTCTTTTCGAT
 TGACTGGTCTTGCAAGCCCCCTTGATTGATATTTTTTAACAACAAAGGTGTTGCATCATGTCTGGTACCCCGCGTGCCTTTCA
 GCTTAACGAAGCGAACCGCTTCCTTAAGGAACATCCTGAGGTTCTCTACGTTGACCTTCTGATTGCAGATATGAATGGTGTGG
 TCGGTGGCAAGCGCATAGAGCGCACCAATCCACAAAGTTTACGAGAAAGGCATCAATCTGCCGGCCTCCCTCTTTGCCCTG
 GACATCAACGGTTCCACCGTCGAAAGCACCGGGCTGGGCCTGGACATCGGCGATGCTGACCGCATCTGCTATCCAATCCCCGA
 CACGCTCTGTAACGAGCCATGGCAAAAGCGCCCCACCGCCAGCTGCTGATGACCATGCACGAGCTGGAAGGCGAGCCGTTCT
 TCGCCGACCCGCGCAAGTGCTGCGTCAGGTGGTGACCAAGTTCGACGAACCTGGGCCTGACTATCTGCGCCGATTCGAGCTG
 GAGTTCTACCTGATCGACCAGGAGAACGTGAACGGCCGCCGCGAGCCACCACGCTCGCCAATTTCTGGGCAAAACGCCCGCAGTC
 GACCCAGGTGTACCTGATCGACGACCTCGACGAATATGCCGACTGCCCTGCAGGACATCCTCGAAGGCGCGAAAGAACAAGGCA
 TCCCGGCCGACGCCATCGTCAAGGAAAGCGCCCCGGCGCAGTTCAAGTCAACCTGCACCACGTGGCCGACCCGCTCAAGGCC
 TGCAGTACGCGGTACTGCTCAAGCGTTGATCAAGAACATCGCCTACGACCATGAAATGGACACCACCTTCATGGCCAAGCC
 CTATCCGGGCCAGGCAGGCAACCGCCTGCACGTGCACATTTCCGTGCTGGACAAAGATGGCAACAACATCTTACCAGCGAGG
 ATCCCGAGCAGAACGCCGCGCTACGTACGCTGTGCGCGGTGTGCTCGAGACCTTGCCCGCGTCCATGGCCTTCTTTGCCCG
 AACGTCAACTCGTACCGCCGCTTTGGCGCGCAGTTCTACGTGCCGAACGCGCCAAGCTGGGGCCTGGACAACCGCACCGTAGC
 GCTACGCGTACCGACCGGCTCGGCCGATGCCGTGCGCATCGAGCACCGCGTCGCCGGTGCCGACGCCAACCCGTACCTGATGA
 TGGCTGCCGTACTGGCTGGCGTGACCATGGCCTGACCAACAAGATCGAGCCAGGCGCGCCGATCGAAGGCAACTCGT

70>chr1:2617977-2619721

PP2290-PP2291-PP2292-PP2293

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- DNA maturase B



Inverted repeat (palindrome) TCCTGGGCGG CCGCCCAGGA

1183	-1	CGGCGAAATTCTTGCA	8.53
------	----	------------------	------

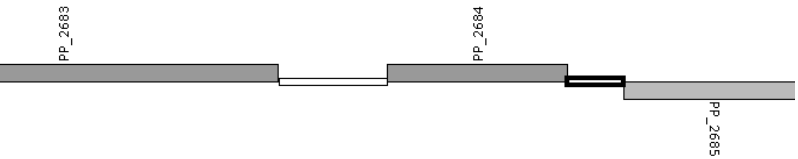
ATTGCCCCCTGGGAGACCGGGGGCCACCACTTGGAACAAACAATGAGCGAAACAATCGACCGCCGCGTGACCCGTTCTTGAGG
 TCCGCGTGAGGCGCAAGAAAAAGAACTGGGCGTGGTCCAGAAGATGACCGAAGCCTTGAACGAGGCCCTGACCAACATCCAG
 GACAACCTCACTCAAATCAAATGGCTCGCCTTGGGCGTAGCTATCACCATGGCCGTGAACCTACCTCGGCTTCCCTAAAGCACT
 CGAAATGGTGGTCCACCATGCTCCTCGGATAGAGCAACCGAAAAGGAACCTTGCACTAGTCCACAACGAGTTTCGCCGTGTGGTGC
 CTCGAAATCATGCGGGGTGTCCCCGTGACCATCGACGGCGAAGGCGTGATGGAGGAGGGAAGCTAGTGCCTCGCCACCTGC
 ACCGGCCTATCTCAACGTCAATCCGCCAGTTCTTGAAAGACAACAAGATTGAATCCCTGGCCCCCAAGGGCAGCACCATGGGCG
 ACCTTAGCGACCTGCCTGTATTTGACGACGATAACCGTTGTGCCGATTCGTCTGTTAGTGTATTTTCACTGCTCTAAGAAGAGCC
 TCCAGGATTTGTTTCTAGCCTCGCTTTTCGTTTTCGACGTTAAATAACAATCATCGCAAGCGCTTTGCTCTCTATTGACTCTCGC
 GGAGGAAATGGCTGGAATGTAGAAATGAGGCACAATATATCGACTGCTGCCAATGTCTTGTAGAAGTCCAGCGCACTGCCGAA
 TTTAGTGTCTAGTAAATCGCCATGAGTTACGCCATTGCGATTAGTGTGCGGTTGGTACATATTTGTGCGAGTCGCTATAGA
 ATTTTTGGAGGAATTTTTGGAAGGAACGACGATCGATTCCACTTCCCCAAACTCACCTGTTTCTTGCCTGGACTTCTTGG
 ATGGCGTCTGCGATCAGCTCCCCGAGGCGGGCGACAATTTCTATTGCCGCGACGTTCCGCCGAGGCCACGCTGCTCATAGAGTCG
 GCGGCCATATGCTTCCACGACCGGAATTAGTCCCGCAACAGCGACGTGTCCAAGTCCCAAAAATGGGCGGATACAGCCTCCG
 CGATGGATTCTTTATATTCACTAACAATCGGCACATTTGGATAACGATTTAATACCATGGCAGAAAGATGTGAGGGGGTGTAC
 ACCTCTGCAAGAATTTTCGCGGATTCGTTTCTCACTTGCTCCTACTGTGCCGCTCAGTTCTATCGCGATTTTGTCTAGGGTTTT
 CATGTTGGAGAATGGCGGAATAGCCAATCCTGCAGTTTCAAAGATCCCTTCAAAGCTTTCAAAGTCGTTCAATTGCTTACGCT
 CCATTTAGTGAATGCATTTCCGTAGGTAGCTTAGTCTAGCTGCTAATAAAATTTTTGCTCGTAAACAACAGGTGCCCCCAGGC
 GCGTCTGGGCGGCTTGGCGCTGTGCTTGGCTCGCTCCTGCGCGGGGCCAAGGAGTCCCTTTGCCGTATGACTGACCGCGT
 TAAAGTTACACCCCGCCAGGAAGACTTTCGAAAGTTTATCTACCTGGTATGGAACACCTCAACCTCCCCGAACCCACCCCG
 TCCAATACGACATCGCCCGATACCTGCAACACGGTCCCCGGCGATGCGTCATTGAAGCCTTCCGAGGAGTGGGCAAGTCATGG

GTCACAGCCGCATTCGTGTGCTGGCTCCTCTGGCGAAATCCCCAACTCCGCATCCTGGTAGTGTCCGCCTCCAGCGCCCGCGC
C

71>chr1:3073641-3075450

PP2683-PP2684-PP2685 (final de Anbu)

tail tubular protein A- tail tubular protein B- hypothetical protein



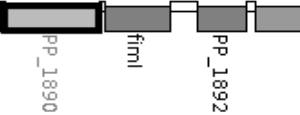
186	-1	CGGTATGGCAGTCGCA	8.44
671	-1	TGGCTCAACCGTTGAG	8.36
974	-1	TGGCTGGCTGTTGAT	8.03
1187	1	AGGCCGGTTCTTTGCT	8.68
1334	1	TGGCTATCCGGTGAT	7.99
1778	1	TGGTAATGCGCTTGCG	9.52

AGCATGGGCGCGCTGTTGGGGCAGTGGGGGTGCGAAGTGGTCACGGCTACCGACCGGGAGGGCGCCTTGCTGGCGTTGCAGGG
GCGAGCCCCGGAACGTGATTCTGGCCGACTACCACCTGGACCATGGCGTAGTGGGGTGCGAGGTGGTGAGGTACCTGCGTGAGC
ATTTTGGCGACTGCCATACCGGCAGTGATCATTACCGCAGACCGCAGCGATCAGTGCCGGCGGGGCTTGCGAGAAGCTAGGGGCG
CCGCTACTGAACAAACCTGTGAAACCCGGGAAACTGCGGGCGGTATTGAGCCAGTTGCTCCTGGTGCATTGATAGGGTACTCG
TTCACCACTCGGCGAAATAGAGCACTTAAATGGCCTGTGCGAAGT'TGGATCCACTGGCCT'TTGAAACTTACCATTTCGGTCA
ACTTGCAAGAAGTTAGTAACTAACTAATACGGCTTTAAATACCGCTGGTTCGGTGCTTTTGCTCAAGAAATGAACGATTTGCC
AGTGGGTGCTTCCTATTTGCCAGCGAATGTGTTCTTCAAGTACCACACTTCGCACCTCTCCCCAGAACGTACTGGACGTTCAA
CTTGATTGAATCGCAGGGATGCACACGGGCTTTTTTACCTCTGACAATGGAGTAACGCCATGTCCAACCGAGGCTCAACGGT
TGAGCCACTGTGTGCAATTGAGTAACCTTTTGCTGTTTCAATTAACGATATGAATTTGGTCTTCCCGGTGCGATCAAGTCGTA
CGCATGCTTGTGTGCAAGGCCATCTAGCGCTAATGCATTACGTGGAGAATTTCGACGTGGAGTTTAATACAATTATTAGCCTGTT
CGGGCAGAAAGAATCCATGGAGCTGGTGCAGTTGTGCGTCAATTTATGTTTACTGGCCTGTTGTATCGCCATCGGCCTGG
TATTTACCAGTGATGCCGAGATGGTCAGGGACTTGTGTAAGGGGCTATCAACAGGCCAGCCAATGACGGTAAGAATGAGCCCGA
TTGCAGGCGTCCGTTGCCAATGCCCTTGATATTCCTGTGGCTTACCGGTGCCGCGGTTATTGGTATCGATTACCTTGAAAAAGG
CATGAGTTATTTTGCCAATCCCAAACCTTCACGCCAAGTCAATATTTGCTTGTCTGCTGACCTTCAATGGCATGTTGTTGCATC
GTTATGTATTACCTGCCTTGATCAAGGCCGGTTCTTTGCTTGACCTGAATATAGGCGTACGGATGTTTGCGTTGTTTTCTGGT
GCACTGTCAGGTGTTTCTGGTTATATGCAGCGATGCTGGGCGTTCGGTCGGCCACTGGCCTGGAAGTATTGTTGACCGAGTT
GCTGTGTCGCTATCCGGTGATGATCCTGCTTGGCTTTGCCCTGATGGCCGCATGACCCAGTGGGCGCGAAAACGCAAAATGG
CCAAAGCGAGCCAGCACCTGTGTGGCCGCGGTGGGCATTCTTGTCTAGTGGCCTGAGGCACGTGCAACGGCGCCGCGAAGCG
GCGCTCGCGGTTACGCGTTTGCTTGCACGCTGCGCCCTTTTGCCAGATAGGCATTGAACATCATCTTCCGGCACCATTGCTGCCC
CCCGTTCCACAGGACATCACAGCCTTCAAGGCTTGACAGTACCTGTGGGAGCGGGCAAGCCCGCGAAAGGGCCGGTACAGG
CAAAGGATCTGACCCGTTTGCTCATTCAGCCATAAGGCGCGCTGGCAGTTCGGCCAGCAGGGTTTTCAAACCGTCGCTCCAC
TGCTGCGAATCTGTTGATAATAGGCATCGTCGCTGGTAATGCGCTTGCGCGTCATGCTTTCCAGG

72>chr1:2132202-2134288

PP1890-91-92

pili assembly chaperone- type 1 pili subunit FimI- hypothetical protein



998	-1	TGGAACCTCGGTTGAT	10.92
1123	1	AGGCATTGCTTCGCT	8.97
1644	1	TGGCTCAGCAGTTGCT	15.00
1665	-1	TGGAAAAGCAACTGCT	10.78
1929	1	TGGCTTTCTTCTGGCA	7.02
1940	1	TGGCACCTGCTCTGCT	13.30
2013	-1	TGGAATATCACCTGCA	12.53

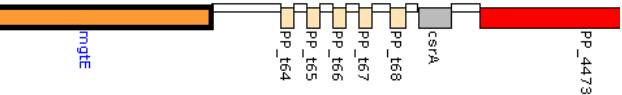
ATTCTGTTTTCGCTGCGAGGCAGGCCCTAGTTGGCCAGTTGAATAGGCGCGCTCAGCGGTTTCGGTGAAGCCACCGTAGTCATT
GACGATGGAAAAACGGGCTGCAAGGCTGGAGGCGCAGTGATGCCGGTCAGCGGGTAGGTTTTTTCGCCAAAGGGTTCCAGCA
TGGCGGTGTTTTTCAAGGTGTGTTGCTGGCCTTGGCCCTTACCTCCAGGCGGTTGAAGGTGATGTGGAAGGCGATGGGTTT
TTGACCACCAACTGCTCCACCCCGTTACGTACGCTCAAGGAAAACGTGACGAGTTTACGGTGTGCTGCTGACTTGCGGAA
TCTCCTGCACGTTGAAGAAGAACAGCGACTCGCGGTGCTGTGGCAGTGTATTGGGCGAGTCCAATATTTTTTAGAAGTTGTTCA
CTGTTTCGGGTTGATCTTGAACAGCGGTGGGACGTTGCAAAGGGTACGCTGGTTCGTTGTCGTCGGCGTCCGTATTTATCCA
CGCCTGCACGGCATAGATGCTTTTTCGATGGGTTTTCGAACAACGACGATGTACTGCGTTTGTGCGCGTTGAAAACGAGGCGCG
TGTTGTTTAAATGTCAAGGCGCATGACTGTTTACCAGAGGGTAAGCATCAATAAGGTACAGGCAGACGCAAAACAACGACGCG

GCGGGTATCGTGAATGTTGACGGATTGGTCATCGGGTAACTCGCTGCATCCAGACGCACAACACTACGCCTGGATGGTTTAACCG
TGCAAGGACTGCACAGAATTTATGCGTAAATTATTGATAGTCGACGGTGTAAACGAACCTGGGCGGATGCAAGGCCGTGCGTCAC
GGTGCTGGCAGTGGAAACGGTAGTAGGCGTCAACCGGAGGTGCGTTGGGCCCTGTCGCGTTGAGTGGGTAAATCAACCGAGGTTT
CACCGGGTTTGATCGATGCCTTTGGACTTGTCCCTGATCACAATCGAGATGTTTTCTGCCGTGCCGGCACATGTTACCAATGCTG
AAATAGTCGCCGTGGCATCAGCGGCACCGTCAAACCTTCACGAAGGCATTGTCTTCGCTGATGCTGCAGACTGTTTTGTGCGG
TACGCGGATGTTAAAAGATGCGCCACGGACTTCAACGTTGGCAGCGGGGAATCGCCCCATGGGAATTTGCCCCATGGCGACGC
GGTCACTGACATTGCCGTCAACGGGATTGACGATCTCGATAGGACACGTTTCGGGCGTGATGCGGCCCTTCAAAGAATATCGAG
CCGGAAGCGAATGCAGCATTGCTTGCCAGGCCAGTAAGCAGGCCGAGGGATAGAACTAAGGACTTCTTCATGACATAACCTGA
TTGGGTAAATGGGTCAAGTTTCAGTGCGGGGGTGGGCTGGGTCTTTCCCGTTTCCCGTTTTCGCCCCGGCGCTGATTCTATTT
GTCATGAGATTTATCGGGCTGTAGGAATAAGCCGGACAACCTTTCGATCTTTTCGCTTTGTTACAAAGATCTTGAGGTGTAGGCT
TCCACAGGTGCCCTGGCGTTACCAGGCGACCTGAAATCAGGTTAATGGGTACTGCTTGGGCCACTCTGGCTCAGCAGTTGCTT
TTCCAAGGTTCCAGTCAATGGCTCTGCGTTCAACTCGGCCCTCGTGGCGACGCTCTTCAAGCTGCTGATAAAGCGCCAGCTCCT
CGTCTGGCATGAAGTGCAGGCAATCGCCAGCGAAGAACCACAGCAAGTCACGCGGCACCAGATGAGCGATCTGCGGGTAACGC
TGGATCACCTGACACATCAGGTCCTGGCCAGGTACTGGCTCTCAAGCGGATCCTGCGGCAATAGCGTCAGCAGTTTCGTCGAA
GCGTTCGAGGAACAGGGCGTGGCTTTCTTCGGCACCTGCTCTGCTTCACCCAGCGCCACCAGAATGGTGCGCAGGTGCTGGA
GCAGTTGCAGGTGATATTTCAAGGTAGGGGTTGGCCATGGAATGGGTCTCGGTATGGCTGAAACGGGGGGCGGAGTATACGCC
GCCCCCGTTT

73>chr1:5078415-5080575

PP4471 - tRNAs- PP4472 csrA -PP4473
mgtE (magnesium transporter)- csrA (carbon storage regulator)- aspartate kinase

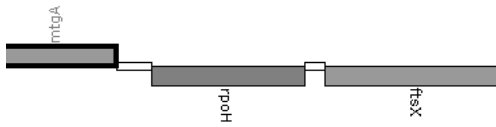
Rho-independent transcription terminator GCCCGCTCTATTGAGCGGGC
Rho-independent transcription terminator CGCGAAGGGCGCGGCAAGCCGCGCCCTTCCAG



546 1 TGGGACAACGCGTGAA 7.26
TCCATGTCGGCGATCAGCGATTGGCGAACCGAATCGGAAACTTCCAGCAGGATGTGCGCCATCGCGCTCCGAGCGCACCAGTTG
CCAGACCGTCAGGCGATCTTCCAGGGGCAAGGCTTCGAGGATGTAGGCGATGTGCGCGGGGTGCAGGTTCATCGAGCTTGCCT
GCAGCTCGACGAGGTTCTGGCGGTGGACCAGGTTTTCCACCAGGTCGTTGTGCGCGCCTTCCCTGGCGATGGGTGAGGTCCTTCG
ACCATGCGCTGACGCTGCAGCAGTTCCAGCACCTGGGCCAGGCGATCCTGCAGGCTTTTCTTGCCTTTTTTAACCTTCTACTTC
GGTCATAGGCGAACTCCACTCCAGCAGCGGAGCACGCCGAGGGAATCAATCGGTCAGATCTTTCTGTATGAATCGTGTTAGC
GAGTAACTACTGGGTAAAGTCCATGGTGGTTTTCCACAAGCCCCGGCGGGGTGACGGGCGCAATCATACACTGCTAAAGCTGT
CAGATCGCTTAAATTTTTTGGCCAGAACAAATCGTTTGCAGGATAAAGCTGGGACAACGCGTGAAAGCTATCAGTGCGACGATTGT
TGTGGATGGGAAAGCACATTTGATTTTTGAGGCGGCTCAGCGGCTCCAAACTACACCGCAATCATTACAGAAGAGCGTAGATC
GACAGGCTCAAGAATTCATTGGCGCACAAAAGCCCGCTCTATTGAGCGGGCTTTTTGATGGGGTATGGCGGACTCAGC
AGGATTCGAACCTGCGACCGCTCGGTTTCGTAGCCGAGTACTCTATCCAGCTGAGCTATGAGTCCGTGATGGTAGTTTTAGACC
AGGTTACCACTGGCTTACTGAAATGGCTTTTCAAGCAGAACCACTTCAAGAAAGTGGCGGACTCAGCAGGATTCGAACCTGCG
ACCGCTCGGTTTCGTAGCCGAGTACTCTATCCAGCTGAGCTATGAGTCCGCGATTGGCAGTTTTAAACAGATTACCGCTGGTT
GACTGAAATGGCTTTGCAAGCAGAACCACTTCAAGAAAGTGGCGGACTCAGCAGGATTCGAACCTGCGACCGCTCGGTTTCGTA
GCCGAGTACTCTATCCAGCTGAGCTATGAGTCCGCAATTGGCAGTTTTAGACCAGATACCGCTGGTTGATTGAAGCAGCCTTG
CAAAACAAAGCCACTTCAAAAGTGGCGGACTCAGCAGGATTCGAACCTGCGACCGCTCGGTTTCGTAGCCGAGTACTCTATCCAG
CTGAGCTATGAGTCCGTGTCTTGGCCGCGCATATAGGTGCTGAAACATTTTTGCAAGAAGCTTTTCGTTATAAAAACACTAC
TTAGCGTTCTTACCGTTTACAGCGCCCTACGCAAATAATGGCGGTGAAGGGGGGATTCGAACCCCCGATACCGTTATGAGGTA
TACTCCCTTAGCAGGGGAGCGCCTTCGGCCACTCGGCCACCTCACCAGCAACACGAGGCGAATATTAAGAACCTCTTTACCT
TTGCAACCTTTTTTTGAAAAAACTTCAAAAAAATTAAAGGCTTGGCTCTTCATCCTTCTCCTTCTTGATCCGCAGGTAGAT
TTCTCGCGGTGAACTGCCACTTCTTTCGGGGCGCTCAGCCAATACGCACCTGGTTGCCTTTGACGCCAAGCACCCTCACGG
TGATCTCGCCGTCTCCAATGATCAGGCTCTCGGCGCACCGACGAGTCAGAATCAACATAGCTTTCTCCTTACGCAAAACATTC
AGGGGTAACAATGCTTGGATATCGGGCCCGGTGCGCGACGACGACCATGGCCCCGTTACTCGCCGCACAAGGCAGGACAGGA
CCTGCGCGGCGAGCAGAAACGCGAAGGGCGCGGCAAGCCGCGCCCTTCCAGGCAGCGCTTACTCGCCCTGTGCGGCAGGAGC
ATCCAGATCGAACCGGATGTCAGCGCGCTACGGCCAGCTCCAGGTACTTCTCTTCGAGCACCACCGAAACCTTGATCTCGG
AAGTGGAGATCATCTGGATGTTGATGCTCTCCTTGGCCAGGGCTTCGAACATGCAGCTGGCAACACCGGCGTGCGAACGCATG
CCGACGCCGACGATCGAGACCTTGGCGATCTTGGTGTGCGCGATCACTTCACGGGCACCGATTTTCGCGCGCGGTGTTTTCCAG
CA

74>chr1:5827603-5829254

PP5107-PP5108-PP5109
mtgA (monofunctional biosynthetic peptidoglycan transglycosylase)- rpoH (RNA polymerase factor sigma-32)-ftsX (hypothetical protein)



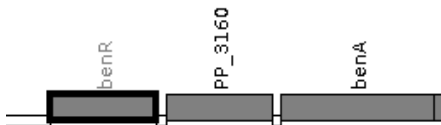
76	-1	TGGCACTCCACTTGAT	13.91
1402	-1	CGGTGCATGGATTGCA	9.19

GACGCCAGCCGGCTCAGCCGCCAGCAGGCAGCGCAGCTGGCAGCGGTGCTGCCAAGCCCAATCAAGTGGAGTGCCAGCCGACC
 GAGTGCCTACGTGGCCAGCCGGGCCGGCTGGATTTCGCCGGCAGATGAGCCAGCTGGGCGGGGCCAGCTACCTGATGCAGCTGG
 ACTCCTCCAGAAAGCTTTGAATGCAGGCCCGGCCCTTTTCGCGGGTAAACCCGCTCCTACGGGCAACCGCATCCCCGGCCTCCT
 CGCGGGCAAACCCGCGCTACAGGCAACCGCATCCCCGTAGGAGCGGGCTTACCCGCGAAGAGGCCGGCAAAGCCAAACAAA
 AAAGCCGCTCACCCATAGGGCCAGCGGCTTTTCTTTACAACCCAGACTCAATCAGGCAGCGATCAGTGCCTTGACCTTGTTTC
 ATCGCATTTCTTCTCAACTGGCGAATACGCTCAGCCGATACGCTGTACTTGTCTGCCAGTTTCATGCAGCGTGGCCTTCTCTTC
 CGCCAGCCAACGCTGGTAGAGAATGTCGCGGCTACGCTCGTCCAGGCCCTGCAGCGCTTCGTGCAGGTTGCTGGTGGAGTTGT
 CACTCCAGTCGGCATCCTCAAGCTGCACCGCCGGATCGTAACGGTGGTCTTCCAGGTAATGCGCAGGCGACTGGAAGGCGCTG
 TCGTCGTCAGCTTCCGCTGCCGGGTCAAAGGCCATGTCCTGGCCGCTGAGGCGGCTTTCATCTCGCGCACTTCGCGCGGCTC
 GACGCCAAGGCTTTCCGCCACGCGATGCACTTCGTCTGTTTTCAGCCACGCCAGGCGCTTCTTCTGGCTACGCAGGTTGAAGA
 ACAGCTTGCGCTGAGCCTTGGTGGTAGCCACCTTGACGATGCGCCAGTTGCGCAGAATGAACTCGTGGATCTCTGCCTTGATC
 CAGTGCACGGCGAACGACACCAGGCGCACGCCCATTTCCGGGTGAAGCGCTTGACGGCTTTCATCAGGCCGACGTTGCCTTC
 CTGGATCAGGTCAGCCTGGGCCAACCCGTAGCCGGCATAACTACGGGCGATATGTACGACGAAACGCAGGTGGGCCATCACCA
 TCTGACGAGCGGCTCGACATCCTGCTCATAATAGAGACGCTCGCCAGGATCACGCTCCTGCTCGACCGTCAGCAGCGGGATG
 CTGTTGACCGTGTGCACATAGGCTTCCAGGTTTGACCGGGTACCAGGCATAGGCAGGTTGCAACGATGTGGTCATTCAAGA
 ACCTCCGACTTACAAAACCTCGCACCTTGTGGGCGCTGCCAACATTGACCTGGAACGACGGTACAAGTTCCACAGTGAAGAAA
 TGTCAATGCTGGCACGTAAAAACTATCGCGGCCAGCTCGTTCAAGTGGCGGGCGAC TGCAATCCATGCACCGATATACCCC
 AACAACACTGCTCCGATCAAGAGCGACAGACCATCGGAAGCCGGAACGCCGCCAAGGCGAAGTCACTGCCATACAGCCCGGA
 AAGCCCTACCACCGCTCGTTTCAGCCAGTTTCAGGCCAACGCCAGGATGCCCCACGCCAGCAGGCTGCGCCAGGCCATACA
 GGGCGCCCATGTACAGGAAAGCGCGCACGTAGGCGTCGGTGCCGCCGACCAGCTTGATCACTTCGATCTCG

75>chr1:3580315-3582259 ver pico 31

PP3159-PP3160-PP3161

benR (AraC family transcriptional regulator)-hypothetical protein- benzoate dioxygenase subunit alpha



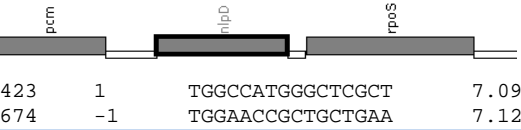
335	-1	TGGCGCACGTAATGCT	12.24
870	-1	TGGCCGGTGAATCGCA	8.06
1891	-1	TGGCACCGCGGTGGCT	11.98

AATCATTAACGGCTGGATGAGCTGGATGGCTTCGTGAACCTGCTGGCCATGGTTTGTTCATGAGGCGGAAGTGAGCGATTTCGCT
 GCCCAGGGTGCAGGGCCATTACAGCCAGATTGTCGCCAGCAAGCTGCTGACTCTGATGAGCACCATATCCGCCGCGAGAGCC
 TGAGTGCCCCGAGGCTGGGCTAGAGCGCATTCCTTGATTACATCGAACGCAACCTGAAATTGGAATTGTTCGGCTGAAGTGCTG
 GCAGAGCAGGCTTGCATGAGTTTTCGCTTCGCTGTATGCGTTGTTTCGACCAGCACTTGGGCATCACGCCCAAGCATTACGTGCG
 CCA GCGGAAACTGGAACGGGTGCATGCCTGCCTGAGCGACCTACTTGTGGCGTGCGCAGTGTGACGGAATTGGCCCTGGATT
 ACGGTTTCTTCATCTGCGGCGGTTTTCGAGATTTATCGGCAGCAGTTTGGCGAGTTGCGCTTTCACAGACATTCAAGCGGCGC
 GCGTGACGCGCTTTGCTTGTAGACCTGGCAATTTATGCCAGTTGCGAGCGCTTTGCTGTTAAACCACCATTAGTTCTATGCCG
 GACGAATGGTTCACAGCCATGCAGCAGTCGCAGAAACAAATTTATTTCTACGCTCCCGAAGGACTTTTCGCTGGTCAAATATGTT
 GGCGCAGAAGCTTCGGCTTTGGTGCAGCGCAGCAGGCCGAGCGCTGGCGCAGCGTGATGATGTCCAGGCAGCGCTTTACGCAGC
 GGATCTACAAGGCTTCGGTTTCAGGGATGCATTGGGCGAAATGCAACGAACCTGATGCATACACGGCGTATGGCTGGGACAGCC
 AAAATACTGATGCATCAGCGTTGT TGGGATTACACCGGCCA GCGGAAAGACACTCTCACGGGGCACTATTTGCTGGGCGATGGA
 TATCGCGCATTCAGCCCGGTGCTGATGCGGTTCAATGCGCCAGACAGCTTGAGCCCGTTTCGGTGATGGGGGGGCCAATGCGTA
 TTGTTATTGCAAGGGTGATCCAGTGAACAAAGTGGATCCGAGTGGTCACGTTCCAACCTGGTCACGTTGACTATCCGCCAGCA
 GCTTCATTGCGGGCGGTTTATTTACCAAGCGATGGGGACTCCGCTCGCGGCATCATATCAGTGGGGTCAAAAAGCTCCGGCC
 TTGAAAACCCCTCGGTGTGAGAAGGCAGTGGATGAATTCGACAGTACCCTCCCAGCCAGGATAAAAACAGCCAAAAGAAACCA
 ATCGTGGCACCCAAATGACGTACAGCGACTAAAGCGAGCTGCTGGCTGGTTCCAAAGCAGAGCGAATCGTTTAACTGGCTG
 TAAAGCACTTTGAGAAGGAACGTCTCCCGGTGGATGCCCAAGCAGCCCGGGAGACATTGCAGGAGGTGTTAAGTATCAAACAA
 TGGGTTGATCGACACCTGGTAGCTGCAAAAAGGATTTTATAGAAAAGCGTGAGTTGTTTCAAGCATTGCCATTTTCTGAAGTTAC
 CGAAAAAGTACCGAACATCCGTAAATCTGGATAACGTTCTGCACAATCCGGATAGCCCCCGCCAGCCGTCTCCCTAACCTGA
 CCAGGTCTAAACAATAACAAGGGAGACCCTGGCCATGTCCCTGGGATTTCGACTACCTCAATGCCATGCTCGAGGACGACCGTG
 AAAAGGGCATCTACCGCTGCAAGCGGGAGATGTTACCGACCCACGGCTGTTTCGACCTGGAGATGAAACACATCTTCGAGGGC
 AACTGGATCTACCTGGCCACGAAAGCCAGATCCCCGAGAAGAATGACTTCCCTCACCTGACCATTGGGGCGCCAGCCGATTTT
 CATCGCGCAACAAGGACGGTGAGTCAATGCCTTCCCTCAACGCCCTGC AGCCACCGCGGTGCCA TGCTGTGCCGGCACAAGC
 GCGGCAACCGTTCCAGCTATACCTGCCCCGTCCAC

76>chr1:1817427-1819947

PP1621-PP1622-PP1623

pcm(protein-L-isoaspartate O-methyltransferase)- nlpD (peptidase M23B)- rpoS (RNA polymerase sigma factor RpoS)

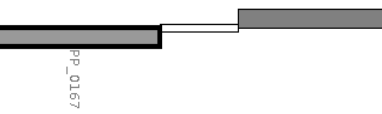


GGTAGGGCCGGCCGGCGAAGCGCAGCAACTGATGCTGATCGTGCGCGAGGAGCATGGATTCTCCCCTCGGGTACTGGGGGCTG
TGCGTTTCGTGCCGCTGCTCAATGGTCCCCTGCCCTGAGGCCGTGTTGATCCGAGCTGTGCGGGCATGAGGCGCGGTGTATTTT
TGTGCCGGTGGCGAATTCTTGTGCTTCGCCCCGTCTATCAGGCGGTGCGAAGCGCTGACGCACAGCGTGCACCGGGGTTTTA
TGCCCGTCTTTTGTACCCGTCTGCCATTACCGGCTGGCTTGGTTATAATTGCAACAATATTGCATTTCTTGTCTTCATATCGA
TTTTCGGCACCATGAGGGGAGCGCGGGTGGGTACACAGTCAATTCGGCAGCGCAAGGACGGGTGGGTTCGACCCGCAACAACAC
ATTGCATTTGGCCATGGGCTCGCTTCTGGTGGGTGCTCAAGCACCAGCAGCAACAGCGCGCGGGTGGTTCGACCCGCAACAACAC
CGTGCCCAAGCGCCCGCGGTGACTTCTGGGCAATACATCGTCAAGCCAGGCGACACCCTGTTCTCCATCGCCTTCCGTTATG
GCTGGGACTACAAGGAGCTGGCTGCAAGCAACGGCATTACAGGCGCCTTATACCATCCGCCCGGGCCAAAGCGATTCTGTTTACGC
AGCGGTTCCAAGCAGCCGACCCAGGTGGTGTCCAGCCCGTCTCTCGTCAAGCCGACCCAGGTACGCGCGCGCCTGTGGGCAG
CACAGCCACGGCGCCTGCCAGCACCAGCAAACCGGCCACGTGCGCGCCTTCCGCCCTTGCCCTGTGGTTGCTACCGTACCAG
CCGAGAGCGCGCGGTAGGTGGGTGGACCTGGCCTGCCAACGGTGTACTGATTGAAAAATTCGCTTCAAACGGTAGTTTGAAT
AAAGGCATTGATATCGCCGGTGATTTGGGACAGCCTGTTTTTGTGCTGCGTCTGATGGTGGGTGGTTTATGCCGGGAGTGGTTT
GAGGGGCTACGGCGAGCTGATCATCATCAAGCACAGCGACACCTACGTCAAGTGCCTACGGTACATAACCGCAGGCTGTTGGTTC
GGGAGGGGACAGGTCAGGTCAGGTCAGGTCAGTTCGATTGCTGAAATGGGGTCTACGGGCACAGATCGGGTGAAGCTGCATTTTCGAG
ATTTCGCCGCCAGGGCAAACCGCTCGATCCACTCCAGTTCCCTGCCACGTGCTTGAACCGTTGTACCCAGCCTGTTCCCTGTGATGT
AGAGGGGACAGGCTCAAGCGCTGCCAGGGAGAAAGGTGCCGCTCGAGTCTGAGTTCTGAACCTCAGCAAAGGATTATAACAATGG
CTCTCAGTAAAGAGTGCCTGGAGTTTGACATCGACGATGACGTCTCTCCTGATGGAGACGGGTATCGTTTTTGAAACGGATGTG
GTGTGAGACGAACCTGCTGTATCTTCGGTTTCGGACGAGGGCCAAATCGGGCTCTTCGCTCAAGCAACACAAGTACATCGATTA
CAGCAGGGCGCTCGATGCCACCCAGCTGTATCTCAACGAGATTGGTTTCTCGCCGCTGCTTTTCGCCGGAAGAAGAAGTGCATT
TTGCGCGCTTGTGCGAAAAGGTGACCCTGCCGGCCGCAAGCGCATGATCGAAAGCAACCTGCGCCTGGTTGTCAAATTTGCC
CGTCGATACGTGAACCGTGGCCTGTGCTTGTGCTGACCTGATCGAGGAGGGCAACCTGGGGCTGATCCGGGCGGTGAGAAAGT
CGACCCGGAGCGTGGTTTCCGTTTTCGACCTATGCGACCTGGTGGATTTCGCCAGACCATCGAACGGGCGATCATGAACCAGA
CCCGCACCATTTCGCTGCGGATCCACGTGGTCAAGGAACTGAACGTCTACCTGCGCGCGCGCGGAGCTGACGCAGAACTT
GACCACGAGCCCTGCGCGGAAGAAATCGCCACCTTGTGGAAGAGCCGCTGCGCGAGGTCAAGCGTATGCTCGGCCTGAACGA
GCGGGTGTCTTCGTTAGACGTGTCTTGGCCCGGATTTCGGACAAGACCCTGCTCGATACCCTGACCGACGACCGCCCGACCG
ACCCGTGCGAACTGCTGCAAGGATGACGACCTGTGCGAAAGCATCGATCAGTGGTTGGGTGAGTTGACCGACAAGCAGCGTGAA
GTGGTTGTACGCCGCTTTGGCCTTCGCGGCCATGAAAGCAGTACCTTGGAGGATGTGGGGCTGGAGATCGGCCTTACCCGTGA
ACGGGTGCGGCAAAATCCAGGTGGAAGGGCTCAAGCGCTTGCAGGATCCTTGAAGAAATGGTCTGTCCAGCGAGTCATTGT
TCCAGTAGCTAGCGCTGTAACAATAAAACGCCCCGGTGATCTCGGGCGTTTTTGTGTGCGCCAGGCATGGCGCGTTGCGCGTA
TGCGCAACCCGCTTGGTTGTGGTGGCCAAGTGGGTGACTTGGAGGTGAAAGTCTCTACACACCCGGCAAGGGGAAGTGTAG
CCGGAGGCAAGGGTGTGCGGGTGACCGCG

77>chr1:193147-195203

PP0167-PP0168 lapA

toxin secretion ATP-binding protein – lapA (surface adhesion protein)



CGGCAAGGTTTGTGCT 8.45 orientado correctamente. Un poco lejos

GCGGCTGACATGCACCTCGCCACCGTCTGCTCTCGCTGAGTAGCAGGCGCGCGGTGTATCGTTCTCCAGCCGAGCAGGACGG
CGCTGCGGCCCTCCTTGAGCAGCAGCATGGCCGGCATGGCGATACTCGGGATCTGCTCCAGCTTTTCGCTGAAGCAGGCGCCCC
TGCAGGCCAGCCCCGGCGCGCGCGGAGCAGTTCAGGGCTCAGGCGCTGGGCGGGTAGCGGTAGGCCTGTTGTGATGAT
GACCCGGCTGGCGGGCTTCTGGTGCAGGACACACAGGCTCAGCAGACTATCCAGCAGGGGATCGTCTGCTGACTGCGTGGAT
CGTGGCTGAGTTGGACTCGACTGACTTCGGATTCCACGCGCGCTCTCTTATCCTTGTGGTGGGTGGGGTGGGTGTGCCGTC
GTTAAGGTGAGGCCGGCTCACCTGGCATTTCTTTGGTGTGCAAGCTGTGCTGATAAGGGTTATCACGCCCTGGTGTGAG
CAGCTGGCCAATGTTTCGCTTGAATCGGTGTTGAGTAAACAATTTACGTGCTTCAATTTTACCAGACTTAGCGGGGCAATGA
TTGTTTCAATTTTATCCAGCCATCATCCGGCTTGTGTCAGCATAGCCTGCCACTCAGCCAAGGCATGCAAGGGCTTTGGGT
CCAGCTTAGTCACTGTCAAGTAAACAGGCGCTGGTTTGTGGCGCATATCTGTGGCTTGTAGTCAAAATTCATCTATAGAGTG
CGGATTCCTGCTTCTTGCAATCAATATCCGCAAGCGATTTTCAATGATCGGGATACCATTATTCACGCACTCGTCCGTCATC
TCTTTGATTTGCGACACATAGCTGCTTGTGACTCGCGCAGCGTTGATAGCCGCAAGCGCCCCCGGCTCTGGCTGGCTATCGAC
CTCTGCCTGGCCGATTCGCGCAAGGTTTGTGCTTATTTGGCAATCAGTGTCCGGGCGATTGACAGTGACCTGGATATTGACG
CCAGTAACGCTGACATTGTGAGTAAAGTGGTTCGCGCGCGGTGATTTACGGCTGCTGAGGTGTATGAAAAAGTGTAGGACTG
ATGGCTTAACACCTTTTTGATGATGTAAGACATTTGTCTCAGGAAACGCTTGGCTAAGGTACAAATATCAATGTGACATTAC
ATTGCCGATTGTTTAGGATGGCATGTATAAGGTCAATAGTTTGGCAGTCAGGCAATTCACAAAAGTTATAGACGGAATATTGA

78>chr1:2590203-2592388

phage single-stranded DNA-binding protein- phage endodeoxyribonuclease I- N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase- DNA primase/helicase



AGGAGTACGACAAGGAGACCGAGGAGGCCGACTGGCCGCTGTTCCTTCAACATCAAAATGGCCGCTCGGGCAAGTCAAGAAA
GACGGCTCCGCTCTGGACCCGCAAGCCAGCCCTGTTCGATGGCCAAGGGCAAGCCAATTGCTGAAAGTCCCGGACATCTGGGGCGG
CACCGAAGGCAAGGTGAGCTTTGAAGTGGCCCCCTTACTTCATCCCAGGCACCGCCCTGGCCGGTATCAAGCTGCGCCTGAACG
CAGTCCAGGTCATCGAGCTGCGCAGTGGCGGCAACAAGTCCGCTGGCGAATACGGCTTCGGTGAAGAGGAAGGCGGTTTCGAC
GCTGAATCCGTAGCCGAACAAGAACAAAGAAAAAGACGAGTTCGAAGAAGAGGAAGAAGGTGGCGAAAGCAACACTTACG
AGAAGACTTCTAAAGACGCTCTGGATGCCGAAAAAGTGGGACTCAAATATGGGTTCGCGTCCGGGGCTGAAGAACGTGCCGCA
GACCAACTAACGGCTGTCTGGCATGGGCTTCACCTTCGAAAAGTCTGGTAGTTCCCTTATACCCGACCTGCGAAAAGTTCACAAGTA
CACCCCGGACTTTCGCACTAGCGAACGGCATCATTTGTCGAAACTAAGGGCCGTTT'TTTGACCGAGGACCGCCAAAAGCAACTCC
TGGTCAAAGCGCAGCACCCCTGAACTTGACGTGCGCTTTTGTCTTCTCCAACCTCAAAAACAAAAATAAATAAACGCAGTACCACC
ACCTACGCGGATTGGTGCAGCAAGAACGGCTTCCAGTATGCCGACAAGTTGGTTCCCCATGCCTGGCTTAACGAGCCGGTCAA
TGAAGCCTCCCTGTCTGATCATCAAGGGCCCTCAGCAAGAAAAATAATAATATGACATAACAAGCTGGAACGAAACCCCGCGCTGA
CAGCGACTACCTGGTAGTTTCACTGTAGCGCCACGCGACCATCCCAAGACATCGGGCTGCTGACATCAACCGCTGGCATCGCG
CCAAAGGTTGGCGGTGATCATCGGCTATCACTTTGTATCCGCGCGCAATTGGCGTGGTGGAGGAGGGCCGCGAGCTGGATCAAATC
GGCGCCACGCTAGAGGGCCATAACATCAACTCCGTAGGCATTTGCATGGCCGGTGGAGTCACCGAGGCGGACATCAACGTCCTC
CGAAAAACAACTTCACGCCCAGCAGTTTGCAAGTCTCAAGCACCTGCTGGGCGAGCTGAAAGAGAAATACCCAGCGCGACAA
TCCAAGGCCACCGGGACTTCCCGAAAGTAGCCAAGGCTTGCCCCGAGCTTCGACGTTAAACCGTGGGTAGCGGCCAACTTATAA
GAGTCGTGGGCCCTCAGTTGGATATGGCAGCCGCCACGTCTATCACTCAACTCTGAGAAAGGGCTGGCCTTCGGGCTGGCCCT
CTTTATTGCCCATGAAAAATCGAAAGCATGAAACAGTGAGTGAGTTTCGTGCGCCACCTGCCCTGTGAAAACCTGTGGTTCAAGT
GATGCCAACTCTATCTATACCGACAACCACCAATATTGCTTCGCCTGTGAGCACTACGTTACAGGTGATGGCGAAACCCCAAC
TACTGGAGGGCGAACAAAACGAATGGAAGGTTTAATCTCCGGCGAATTCAAGCCGCTGATGAAGCGCAAACCTTACCCTGGA
CTTGCCGCAAGTTCGGATACTTCGTAAGTGAGGTGCGTGGCAGGCTAGTTCAAGTTGCCCTTACTTCGACAACAGTGGTGTG
ATGGTCGCCCCAAAAACTGCGCGATCAGGATAAAGGCTTCGCCATCCTGGGCGATGGTGCAAAGTTGACCCCTCTTCGGCCAGAA
CCTTTGGGCGAGTGGGGGCAAGAAGATTGTTGTCACCGAAGGCGAGCTGGACGCTATGTCTGTCTCCAGGTGCAAAACAAC
AGTGGCCCGTGGTGTCTCGCTCCCGAACGGGGCTCCGGCAGCACGCAAGGCCATCCAGCGAAACATCGAATATCTGGAGAGCTTC
GAAGAAGTCATCCTCATGTTTCGATATGGACGAACCGGGCCGCGAAGCAGCGCAGGAATGCGCAGAGCTATTACGCCAGGCAA
GTGCAAGATTGCCACGCTATCCATGAAGGACGCCAACGAACCTTCTGGTAGCGGGCCGTGAGCAGGAATCGTCACCGCCATCT
GGAACGCCAAGCTGTACCGGCCTGATG

PP4574-PP4575-PP4576-PP4577

461	-1	TGGGGTACGGGTGAT	7.16
646	1	AGGTAAAGCTGCTGCT	7.94

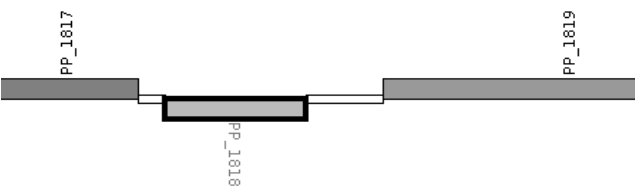
727	-1	TGGCGCAGTGCATGCC	7.15
736	-1	TGGCGCAACTGGCGCA	7.23
874	1	TGGTACACCAGCTGCG	10.77
1033	1	GGGCACAACGCTTGCG	11.34
1573	1	TGGCCAGGAATTCGCT	9.36
2091	1	AGGTCCAGCAAATGCT	7.10

CGAAGAGCTCGACATCGATGGCACCATCGACCACACCGCGCGTGATGCCGGGTGTGTTGAACATCCAGATGCGCCCCGAGCGGC
GCAACACCGTGAAAGCTGCTGTTGCTGTTTCGACATTGGCGGTTTCGATGGACGCCCACGTCAAAGTCTGCGAAGAGCTGTTCTCG
GCCTGCAAGACCGAGTTCAAGCACCTGGAGTATTACTACTTCCACAATTGCGTTTATGAGTCGGTGTGGAAGAACAACCTGCG
CCGCACGTCCGAACGTTTTTCCACCTTCGACCTGCTGCACAAGTACGGCGATGACTACAAGGTGGTGTTCGTCGGTGACGCGG
CCATGGCGCCCTACGAGATCACCAGCCCGGTGGCAGCGTGGAGCACTGGAACGAAGAAGCCGGGTATGTGTGGATCCAGCGT
TTCATGGAAAAATTCAAGGAAGTCACTGGAATCAACCCCGTACCCCAAGCAGGCCCTGGGAGTACACCGCCTCGACCCATCTGGT
GCGCGACCTGATCGAGGACAAGATGTATCCGCTGACCCCTGCAAGGGTTGGAGGACGGGATGCGCTACCTGTCCAAGTGAGGTT
GCCTGTACCGGCCCTTTCGCGGGCTCGCCCGGAAAGGGCCAGCAGTCTTACGACCAACGCCCCAGGTAAAGCTGCTGCTCTC
GCCAGGCCCTCGTCTGCAACCACCGCCCTGAACCGCACCACCGTCCCCGCGATGCACTGCGGCCAGTTTGGCCAGCGCCAG
GTCAGCGCGCCAGCCGCGGGTACCCACCAATGGTTTGCCGGTCATTGAGCAACACGATCGGCTGCCCGTCTGGCGGCACCTG
TACCGCCCCAGCGGGATCCCTTCGAGATCATCGGCGCCCTTGGTACACCAGCTGCGGCCCAACAACCGGATGCCCATG
GGTCGGCCCGGCTATCCAGCGTCCACTCCCGGTTGAATGCCTCGAACAAGCTGGTACCGCTGAATTCACCGATCTGCGCGCC
ATCACCAAGTCCAGCACCCGGCTTTTGGGCGAACTGCGGGCACAACGCTTGCGGCACCTTCGCGCAGGGGGGCGATTGCTACCGGT
AAAAGCCAATGCCTGGTGTTTAGCCAGCGCAGCACCCCTGGCCATCGATGCCACCCAGTGCTTCACGTACCACAGTGGCACAAC
TGCCAGCACATCTTCGCCCAGAAACCCACCCGGTGCCGCCAGATACGCCGCACACCCACTTTGGGCTGCTTCAGGGTCAAG
CGCTGCCCCCTTGCCAGGGCAAAGCTGCGCCATGGCGCCAAGGGCTGATCATCGACACACGATCCAGGTGCGCACCGGCCAG
GGCCAGCACGCAATCTGTTCGCCACCACGCAAAACCCAGCGCCACCTCGACCACCGCGCCCCCAACGGGTTGCCCA
GCAGCCAGTTGGCCAGTGCATCGCCACCCAGTCCAGCGCCCCGCCCTGGGTACGCCAAGGTGGCGCACGCCAAAGCGCCCG
GCATCTGTAACTGGCACAACGGCGTACTGGCCTCGATCATCAACTGCTTTCATCCCTGCGCCTCCACATCACCACCAATGGCC
AGGAATTCGCTGCGCGAAACCGGCACGAAGCGCACCCGGTACCGGGTTGCAAGAGGCTGTAACCCTCACGCTCACGGTCGAA
CAACCGCACCGGGGTGCGCCCGATCAGGTTCCAGCCACCCGGCGATACTGCCGGGTAGGCCCGCCGTCTGGCGCTCGGCAATAC
CCACGCTGCCCCGCCGCCACGCGCTTGCCTGGGGTACTCAGACGAGGGCTGGCCAGGCGCTCGTCGACCAGGCCCATGAAGCCG
AAACCCGGTGCGAAGCCCAGGGCAAACACCCGGTAATCGCGTTACCGTGCAAGCGAACAATCTCCGCTTCACTCAAGCCGCT
GCGGGCTGCCAGCACAGGCGCTCGGGGCCGACACTGGCGTCGTACCACACCGGGATCTCGTGTGCGCGGCCCGCCACTGCCTG
TGTCAGGCTGCAAGCCGTCCAGCGCTGAGCGATTGCGCGCCCTGGCCTCGCCTGGCGCCAGGGCAGACTGCACCATCAGCGTA
GTATAAGACGGCACCAGGTCCAGCAAATGCTCGCCGAACGCCGCGCTCAAGCGCCGGCTGGCGGCGAGCATCCATGGCATGTT
GACCTCATCGATACGGTCGAACAGGCGTACCATCAGGCTGTTCGATGGCGACCACTTCGATTGCGGGCTTCATCACACCT

80>chr1:2043370-2045346

PP1817-PP1818-PP1819

short chain dehydrogenase- hypothetical protein- methyl-accepting chemotaxis sensory transducer



184	-1	TGGCCTGGTATCGCA	11.12
386	-1	CGGTATACGCTTCGCT	8.71
983	-1	TGGTCACCCCGTTGCT	8.97
1467	1	TGGCCTGGGCTTTGCC	10.29
1547	-1	TGGCCAACGCTTTGCA	13.26
1898	-1	TGGCCTGGGACTGCT	10.08
1934	1	TGGCCAGGTGTCGCG	8.60

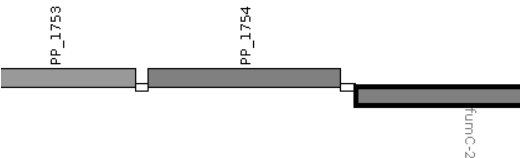
GGTAGGGCGCATTTGGCAAGGTCGAGGAAATCGCCAGCGCCGTGCTGTATCTGTGCAAGTACGCGCGCGCGTTCACACCGGGC
ATTGCCCTGACCGTGGATGGTGGGGCTACGCGGATCTGAAGTGATGCCGTGCGGGCTGCTTTCGTGGGCAAGCCCGCCCTGACA
AAATGCGATCACCAAGGCCAAGCCTACCATGTTCGCGCATGGACAGGAGGGGCGTGCCAGGCGGTTCTGAGCAAGCCGGGCGAGC
CAGCCGGCCACCTGGCTAAAGGCTGACGCTTATTTTCAGGCCGTACTCGTCACGGGTTTGTTCGTCCGAGTCGGTCATCAGGA
ACTGCCCGTCCAGTTTCATAGTTGTAGCGGCTGAAGTAAAGCGAAGCGGTATACCGGCACAGTACCCTGTTGGTTGAACAGCACG
CTAAGTTTCGGCAAAGGGGTTGGTGGTATCTTTCAAATCAAGCTCTTCGTTGCTGACGCCATGTATTTTCAATTGCGAATCGCC
ATTGATAACCTGGCGTATGCCCGCTTCGAAACGCAAGGTGGCATTATTTGAAGCGGTAATTGTACCCCGCCGCGCAGTTTGGCGA
ACGGCGTGCGGTTGGTAAGGTGACATCATGGCGGCTGGTATTTGGGTTCCAACCGGTTCCATTTGTAACCGGCGCCAGCAGC
AGGTGCACTGAATGCCGTTCGCGCAGTGCCAAGCGCCAGCCAGGTCCAGGTGCGCCTGGCCGTCTTGAGCTTCTGGTCATG
CTGTTTCGAGTACATGCCGCTGGCTTCGGCCTGGTAAACAAGGCCTTGCCCTGGCCGTCTATCTTGTTCGCGTAGTTAATGAATA
AGCCACCTTCGGGCATATCTTCGTTTTCATTTGTTACGGCCGTTGATTTCCAGTTGGGTGTAGCTCCCTTGTAGGCCAAGGGTG
AACAACGGGGCGGTGGAAGTTTCGGCATAGCCAACGGTTGGCACAGTAAACAGCAGCAACGGGGGTGACCAAGCAGGTAAACAT
GGCTGTTTTTCATTGCAAACTCCAGGGTGCACTGCAGGTCCGAGAACGGGCCAGTTACCGATCACGATAGCGACGTTTTTTATT
GTGTGCAAGGGGTGTTTAAAAAATCTCAATACCCCACTTTTGGCGCAAATTTAATGGCGTCAATAGTGTTCGATAAAGTGTGG

ATTGGAATAAATGAATGTTTTACTTTCGCTCGATTTAATATGGGCAGGTGCCGTCGCAGGTTGAGGGACGGGCTATCATTGATG
GCCTAGTGATATCTTTTACAGCTGGCACTGAAAGCGACCCCTTTTGCAGCCAAAAACGACAAGACATAGCTATTTGACACTATT
CTGACGCCAGGCCCTTGTTCATTGGCAGATAACGTTGCCACCCTTAGTCTTCGGGATAATCTCACTGGCTGAAAGGGGATCGG
TGATGGGCACGAGCAAGCACGGTGTGCTGGCCAACCTGGGCATGGCCCGCAAACCTTGGCCTGGGCTTTGGCTTGGTGCTGCTG
CTGACGCTGGCGGTTCGCGGCCATCGGCCTCGTGCGCTTGCCTTGCAGCTTCGACAGCTTGCCTGACGCTGGCCCA
GTTCAATACCGACTTACTGCGCTTGCCTGAGCATGAGCAGGCGTTTGCCTTGCCTCCGACATGCAGCAGGCCGACGCTTTGC
GTGGCGGCTTGCAGGGTTTGGTTCGAAACGCGCCCGAGGCCCTGCCGGCGCTGGCAGCGGCACAAACCGATCTCGCCGCTATGGC
CAGGCATTTCGAAGCCTTTGTCTGAGGCCGTGCAAGCCAAGGAGCTGGCGCTGGACATGGCCAGCTGGTCTGGTGTCCAACGTGTC
CAACAACCTTGATGTGCTGCAGGCCGGCTTGGCCGATGACGGCGTGTACACCCTCAAGCAGTCCCAGGGGCAAGCAGGGTGGCG
AGTTTCTTGAGCAAGCCGCGCAGGTGGCCAGGTGTGCGCGCTGATGCTGCAGGCCATGGACGAAGC

81>chr1:1955961-1957858

PP1753-PP1754-PP1755

hypothetical protein- hypothetical protein- fumC(fumarate hydratase)



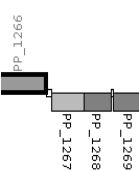
72	1	TGGCCTGTTGCTGAA	8.28
407	-1	TAGCAAAAACTCGCA	7.19
1000	-1	TGGAGCGCCAATTGCC	7.83
1337	1	TGGCGCGAATGATGCA	11.98
1793	-1	CGGCATTGGCGTTGAA	8.77

TGCGCTGCTGACACCTTGGGTGCAACCCGCTGGAGGCCCTTGCAACTGACCCCGGTGCAAGGCTGGCTGCTGCTGGCCTGTTGCT
TGAAACCCCTGGTGCTTACGGCGCGTTCGCCGAAGCGCTGGCGCACTGGGAGGCGTTCGCGGGTAAGTGCCACGCTGGCGCTG
ACCCCGCTGGTGACCTTTGTTGCGGTAGCGCTGGCAGCATGGGTGTGGCCTGAGTATGTGCATGCCGAGGACATCAACGCCCT
GGGCTATGTGGGGGCGGTACGGTGGTGTTCGGTTCGGCGCTGGTAGCGCTGGGGCCCTCGCTGGTGACCAGCTGGCGGGCGC
GTCGAGAACGAGGTCAGCGCGCATACTCATCAGAGGGATGACCTAGCATTTTTTGCTAGTTGCGAGTTTTTTTGCTATTGAATC
AAATGGGCATAAAAGTTTCGCGGAGTAAGGGTGATGAAGGCTCATGCGTTTGTGCATCCGGGTATAAAGGTAAATGTGAATTAC
CTTGAGAGGTTTCGTGCGTCATAATTTGCATCGTGAACCTTGGGAAGAGTGCCAGTGAAAAAGTACTGAATGACTATTTGAAAAG
AGCAGATAAAGACTGGGTTCGCAAGCCGCGCGCTGTAGTGGATTGCGGAGCTTATAGCCAGCCGGATTGTGGGTGTACTGATC
AAACCCGAGATGGCCAGGCTGCCTATGCGCAGGCATTGCTCTGGGTGATCACGGGTGACGAGGAATATGCAGCTACTGCCATC
AAAAATCCTAGACGCATGGTCCCCGAGAATTTACCGGAGGACATATCGGCGAAAATGCACGCCTTCAGGCATCGTGGGCAGCGTG
CTTATTTCATCAGTGCTGCGGAAATCCTTGCTCATACTGCGTCTGGCTGGACGACTGAAGGTAAGGCGCGATTTCAGAGGGATGT
TGGAAACGCAGTTTCAACCGATCATAGAGGACCTCTTCTATGGAGACGGGTGGAAGTGGGATACTGTGCCTGGCAATTGGCGC
TCCAAGGTATCGAGGCACCTTTTATATATAGCGATTTTTTACCGACAATCACGAAATCTTCGCCAGGAGTATCCAGTTATGGAA
AGACCATATCGTGGCGTCCATTTATCTGGAAAGTGATGGGGCGCGTCCCAGACTACTGCCCAATTGGACCCGGGTGCCGACCG
ACGAAGAGGTCAATCAACAGTGGGGTAGTCCATACCGATACATCGAGGGGATGAACGTTGAGAGCTGTGCGGACTTCGCCCAC
ACCGCTTATGGTCTGGCGGCTACTATCAATGTGGCTGAAACGGCGTTATTGCAGGGGATCGATCTGTACAGGGATGAAGAAAC
GCAAGCCAAGGCGCGAATGATGCAAGCATGGAGTTTCATTCTCGGTATGAAAACATTGCATTGATGCCAGACATCTGTAAGC
GATACCACGGCATCCAGTTGAGTGCTCAATGGACATTTGAAATTGGTTATACCCACTATGCGGTCCGTTTGGGGCACTCTTTG
CCGGAAGCTCGCGCATTTGTGCAAGACATCGGCCGACGCAAGGCGATTTTCATTACATGTGGGAAAGTCTGACCCATGCTTA
TCCTCGTACCGGGGATGACCCGATTTCTTGAGTGCCAGAGCGATAGGCACCTCTACCCGATAAACTGTGAGCCGCCCGTGGTG
CGGTGCCGAGGTGATGAGGCAACCTGGGCGGCTCATGGGGGAATCTAGCCTTTGCCCCCAGGCGCCAGCATGTTCTCCGGCCG
CACCCACTGGTTCGAAGTGTTCATTGGTCAGGTACCTCAACGCGCAATGCGCCCTCGCGCAAGGTCGTGCCCTCGCTGTAAGCCT
TCTTGGAATTTCTGCGCGCTTGTCTATAGCCAATATGCGGGTTTCAGCGCCGTCACCAGCATCAACCCACGC

82>chr1:1449008-1450471

PP1266-PP1267-PP1268-PP1269

secretion protein HlyD family protein- hypothetical protein- regulator PrIF- universal stress protein



25	1	TGGCACAGCGGGTGCC	10.30
67	1	CGGAAGGGTTTTTGCT	8.84
1030	1	AGGTAATGCGATTGCA	8.99
1073	-1	TGGTAATGCACCTGCA	9.05

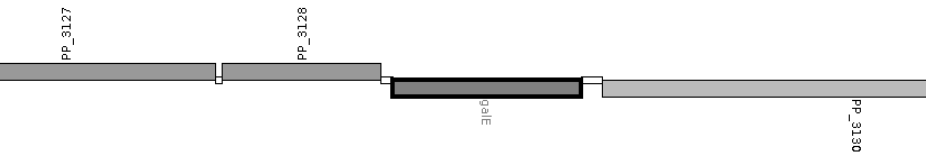
ACCCGACCTTCAACTGGGTGCGGCTGGCACAGCGGGTGCCGGTGCGCATTACATCGATGAAGTGC CGGAAGGGTTTTTGCTG
GCGGCGGGGACGACGTGTACGGTGGTAGTCAAGCCTGGCGAAGGTTGACCTTCGCGACCATCCCGGCCTCCCGCATCATCTGT
GGGAGCCCTGCTGATGCATGCGTATTAGCCAGTCGGCTCAATCTGCGGCAGCCTCTTGACGCAACTGGTCCCAATCGTCCGGT

GGGTTGCCGCTATGCAACATCTTTTCAAAGACCTTGTAAAGCATCGTCGCTACTTTTCATAGGCCCGCTTGCTCGACTCGTCATT
GATCCAGGCCAGCACGATGATCCTGCTGGGGGTGTGGTAGCGGAAGAACAACCGGTACTGCTGGAAGAAGCTTTGCTCTGAACC
AGTGCTTGTGGTCACCGCCAAGTGTGCCCCCTTGCCGGTATTTCGGGTTTGGTCGGGTCTTGAGGGATTACATCGAACGCCAAC
CGCCGGATGGCGGCCAGCTTTTAAAGGTATTTCTTTTCGTATAACCCGTTGGGTCTTTGTCCCGTTGAGCCTCGACTTGAGC
GCTTAGCGCGTCCAGTTTGGCCAGGAACAGCGGGTGGGCAATTACAGTCCATCCATGAATAACCAGAGGCTTCCTGCTCGCAT
CACTCATTCATCGTCCGCCGACAGAGGTTGATCCAGGTGACCTCCGCGTCGCCGACAAGCTTGTGAGGCGCGCGATGAGGC
CAGCATCGACAACCTGCAGCCGTTGAGGGTTGGTAGCGATATCGTGTGCCAGGAAATCCAGAAATTTGCCAGTACCGGATCG
TCCTCGGTTGCTCTGCGCGGGTGAGTATCACCCACCGTCGGGGCGAATCGAGTAATGGATCTTGTACGTTTTTTCAAGCC
CAAGGCGCGCCGACCGTTTCGGGAACAGTGGTTTGTATAGCGATCGGTGACGCTGGACTCGACGTCGAAGGTGGCAGCCATGA
GTAATGTCCTGTGGGTGACAGCGATACTCAAGGTAATGCGATTGCAATTGCCTTGTCAAATGAGGTGCATTACCAATCGGTGA
TGAGCGGTGAGCGAGAGCCACCAACTGGCATGTCTACCCGGTCAATCACCTTCGCGCTGATTGACGGGTCCAGCAACCGC
CCCAACCGCGACAGGTGGCGGTGGCCCATGATGATCAGTTTCGAGTTCAATTTCCTGCGCTTTGGTCACAATCGCTTCAACCGG
CAGCCCGGCCACCATGCGAGCCTGGCTGGCGAAGCCGGCTTGTGTCAGTTTCGCGCACGGCCTCGGCTACGGCGTGGTCGGCAT
GCTGCTGTTTCTGCGAGGCGGCGGGGTATTCTTCCAGTTCTTCGCGGTGTAGGGCGCAGGTTGCTCATGCAGGCGAAGGTG
GAATCGATGGCCAGCAGCACGTGTCAGTTCTGTTCGCCGGGCGGCAGTAGC

83>chr1:3540395-3543244

PP3127-PP3128-PP3129-PP3130

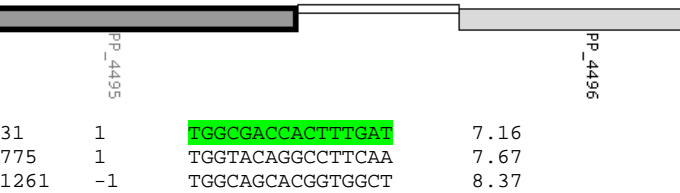
lipopolysaccharide biosynthesis protein- exopolysaccharide/PEP-CTERM locus tyrosine autokinase- galE (UDP-glucose 4-epimerase)-
hypothetical protein



1303	1	TGGCAATACGCTTTCA	8.94
1873	-1	GGGCCTATGGTTTGAA	7.05
2278	-1	TGGTCAAGCACCTGCT	8.03
2738	1	TGGCAGGCTTGGAT	13.58

TGGCCTGGTGACCTTGATGCGAGACCACGACAACGCGCGCAAGAAATACGAAGAGATTCTGTGCCAAGGAAATGGGCGCAAAGA
TTACCGAAAGCCTGGAGCAGGAGAAACAAGGCTGAACGCTTTGTGCTGCTGGAGCCTCCCCTGTTGCCGTGAGAAGCCGATCAAG
CCTAACCGCAAGAAAATCGCTGCGCTGGGCCTGGTGTGTCGACCGGCCGGTGGCGGTGCGCTGGTGATGCTGCTGGAAATGCT
CAATCAGCGCGTGCCTGGCGTGGCGCCCTGGAAAGCCTGCTGGGCAAACGGGTGCTGGTGGCACTGCCCTATATCGATACCC
GGGCCGACGTGGCCCGACGCAAGCGCTGGCGCAATCGACTGATCCTGGCGGCACCTGGCGTGGCAGCTATCATGATAGGGCTG
GTGCACGTGTTCTACATGCCACTGGATGTGCTGTTGTAAAGGTCATGCTCTCGGTTTGTATAGGGAAAGCAGTGATGGACAGG
ATCAAGCCGGCTGTTGGCAACAATATTTCATCAGGTTACCCAGGTACTCCCCAGGCACCTGCTCCCCGCCCCCGGTACGGCGCT
GGCCGAAGTGCCGGGTGAGTTTCGATTACGTGAACACCAAGGTGGTACCCTGCGTGCAGACCACCTGGAGCGTAACCGCATCG
TGGCGTACAACAAGAACTCCAACATGAACGGGCGGATCGACCTGCTGCGTACGCAGGTGCTCAGGGCCATGGACGAGAACGGC
CCACACCACCAAGACTGCGTTACTGGTGGACTTCGACCTGCGCCGGGCCAAGGTCGGCAGTTACCTGGGCCTGCCCATGGAGC
AGGCACTGAACGAGTTTCTGACGGAACAAGGCCGAGTTGCAGGACTGCCCTGGTCAACCCACCTTGGCGCGCTTCGTGGTGCTG
CCAACGCGGGTACCCGTGCCCTGTGACCGAGATGCTGCTCCTCGCCCAAGGTGAACAACCTGATTGGCGATTTCGCGCAACCG
CTACGAATCGCGCATCTGCATTTTCGATTTGCCACCGCTGCTCAGCTCGGATGATGCGATCACCGTGGTTACCCAAGTTTCGACT
GCGTGTGCTGGTGGTGGCCACGGAATGAACAACAAGGAAATCGAGGATTGCTGTCATCACCTGGGTACGGTGAACCTG
ATCGGGACAGTGTGAACAAGGCCGACGAACGCCACGCACCTATTACTGAGCCTTCAGGCAATACGCTTTCAAGGCGAGCCT
TGTGCTGCGCCTGAAAGCTATGAGGCCAACCTCAGCGCCTCCAGGGATACTGCAACTCCCACTGCCACGCATGCCGACAATCT
GCTCCAGTGAGGCGAATGCAGGGCGCCAGCCAGCACCTGCATGGCCTTGTCTCGCATCCGCCACCAGCCGTGGCGGGTGCCTG
GCGCGGCGCTGTGCGTCAAGGGCAGTGATCTGTCGCCCCGGTCACGGCCCGGGCCGTATCGATCACCTGCTGCACCGAAAAGCC
CAGGCCATTGCCAGGTTGAACGCGGCACGCTCGCCACCGTCCAGTAGATAATCCACTGCCAGTGATGGGCAGCCGCCAGGT
CTGCCACATGCACGTAGTCGCGTATGCAGGTGCCATCCGGCGTGTGCTAGTCGCGACCAACACTGTACCGCCTCGCGCCGG
CCAGATGCAGCCTGCAGGATCAACGGGATCAGATGGGTTTCCGGCTCGTGACGCTCGCCTAGCTGGCCTTCCGGGTGACGCGC
CGCTGCATTGAAATAGCGCAGGCTTACCGACCTCAAAACCATAGGCCCGGTGCAAGTCCCTCAAGAATCTGCTCGACCATCCATT
TGCTCAACCCATACGGGTTGATCGGCCCTTGGTGTGTGCTTCATCGATCGGCACGTACTGCGGGTTGCCGTATACGGCGGCA
CTCGAAGAAAACACAGGTGCTGATGCCGCGATTGACCATGGCCTGCAGCAGGGAAGGGTGGCTGCGACGTTGTTCTGGTA
GTACTTGCCGGGGGCACTGACCGACTCGCCCACTTGAATGAACGAGGCGAAGTGGAACACCGCATCGAAGCGACACACGCCAA
ACAGCACATCCAGTGCGGCTTCGTCGGCGATGTCGAGCTTGGCCCACTGGATACCGGGGCCAGGTGAGACCAGGTCCGCCACC
AGCACTTCATGGCCGGCGGCGAGCAGGTGCTTGACCAATGTAGCCCGCACCCACCAACAGATATTTTCAT
CCCCACCTCCTGGAATCTGCTGTTTACAGACGCAAGTGAACACTCCCTGACACGTGACAGGTGGGATGATCAGCTACAGGTGACC
TGAGCGTAGATGGCCATATGCTCTATTTCAAGAAATAGCCAATTTGGACATGTAGGTACCGTCGAAGGTAATGGTGTATTGCCCA
TCCTGTAGGCCACCGGCAGCGGCTTCAGCTGCTCCCGTGCATCGCGGCCGAACAGTTTCAGGCGCGCGGGTGCCTTGATGTC
CAGGCTGCCTTCAAGGGGCTCGACATTGAACGGGCTCTTGTTCATCGGCTTGGGCATGGCAGGGTGCCAGTGCAGACAGAA
GCTCGCGCACTGGCCAGTGGCCTTGGCCTCAGGCTCTGGACACGACGCTGGCGTAAGGCGTTTTCATTGTATCTGAATG
GCACCCAGGTTGATCGGGCGGCGGCCAGCCAGCCGCTGGCGGCTGGGTGAGTGGCGTGTGATGGTGTAGATGCCTTGTG
CCAGTTGCGCCTGAGTTTCGCTGTGTC

84>chr1:5110183-5111635
PP4495-PP4496
amino acid ABC transporter permease- hypothetical protein



GGTAGGCACCCAGGCCGATCATGCTGACGA TGGCGACCACTTTGAT GATGGCGAACCAGAATTCGGCTTCACCGAAGAAGCTTC
ACGTTTCATCAGGTTGATGGCGTTGATCAGCACGAAGAAGGCTGCCGCCGTGACCCAGGTGGGGATCTCCGGCCACCAGTAGTG
AACATACTTGCCGACCCGCCGAAAGCTCCGACATCCCCACCAGGATATACAGCACCCAGCAGTTCCAGCCCGACAGGAAGCCGG
CGAACCCACCCAGTAGGTGTGGGCGAAATGGCTGAACGAGCCGGCCACCGGCTCTTCGACGATCATTTACCCAGCTGGCGC
ATGATCATGAAGGCGATGAAGCCGAGATCGCGTAGCCAAGGATCATCGACGGGCCGGCGGATTTTCATCACGCCTGCCGAGCC
GAGGAACAGGCCGTTACCAATCGCACCCGCCGAGGGCGATCAACTGGATATGGCGGTTCTTCAGGCCCGCTTTAGCTCGCCTG
AATGCATGTTTTGTCCACTCATGAACGAAGTCACCTGCATTGTTTTTATCTGTGACGGAATCGGACCCACCAGCGCTCGTGGCG
CAGCGGAATGGGCAAGGTGGTTACCTTGGGTTTCTTGACCTCAGGTGCCGCCGGAGCGGGTCAACCAGGCGTGATCAAGAGTG
CGCGGTACGCAAGAGGGTACAGGTAAAACGCGCGCACTGTATACCCCTGCAAACGCGCAGGCGTCAACGCGTTGCATCGTT
TCCTCGGGAAAAAACCGACCGTTCCCTG TGGTACAGGCCTTCAA AGGCGAAGTGATCGGCGTACATGGCGCCTCCATTTGTTGT
TTTGTTCAGCCCGGCTCTCTGGACGGGCTCCTGACACAAGGCAATGGCGGCTATAACACCGTGGGGACGGGGGTTTGGGCAAGGG
TGGCTGGCGCCATGGCGACGGCTTTGGCACAGGGGCGCCGGCAAGGTTTGTTTTACAAGATCGGGCTTGATCTGAAATGCGGAC
TGAAAACGGCCACATTCGTACAGATTTCTTTACAAGGCGGTTCAAGAACTTGCCAGTCGTCCGAAAAATTCTTTTTGTTCAAT
ATCTTGGGCTTGGTCCACATTCCTCGCAGGCATAAAAAAACAGCCCGAAGGCTGGTTCTTTGATGACCACACTGGCTTATTAG
CCACGCGGCTTGCCGCGACACGGCTGCCGGCTTGTGCCATCAGGTTTGGCCGGACGCTTGCGCATCTCGCTCGGGCGCTC
AGCCACCGTGCTGCCA CGGGTGGGTTTGGCGGGCGCTTCTTCACGCGGCTGACGCGCCGGGCGTTCCGCCAGTAGCGGCACCTT
CGTGGGCCGGGCGCAGGTTGCGCACGCGCTCGCCACGCGCCAGCGGGCGGGTTCGACTTGCGCTGCAGGCGCTCCATCTTGTC
TTGGCCTTGAGCTTCATGGCTGGCAGCGCGACCGGCTGCAG

85>chr1:4007646-4009737
PP3535-PP3536-PP3537
ggt-1(gamma-glutamyltransferase)- hypothetical protein - pobA (4-hydroxybenzoate 3-monooxygenase)



No promoters found scoring over 7

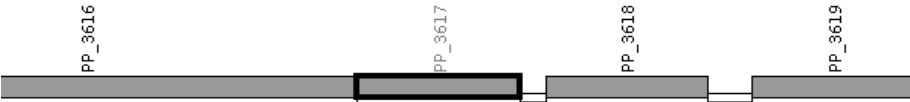
TGGCGGCGTCAATCGCACTGCCGCCGGCACGCAACATCGCCGCCCGCTTCACTGGCCAGCGGGTTGGCTGCGGCGACCATG
TGCCGGCTGGCGTGACCCGGCTGCAAACCGCTGCGGTAGCCGGAGGCCAGTTCCGGTGGCGTGGGCAATACCTGGTGGCGACC
GACCGAGCCGCTGATGGCCATTAGGCACAGCGTTCTGATCAGTGGGATAGAGAATTCATCGCTTGCTTCTGCTCTCTTTA
TTCAGCAGGGCACTGTGGGCCAGGAGTGGACCTGACTTCAAGCCTTTGCGCAAAACGTCCAAGGGGCTGCAGTGCACATCAAC
AGGTGTTCTGCGTGCTTGGATCGAGCAACGTCCACACGGCACTCAATCCTAAAAGCGCCACAACCCGCACCCCATGCCCCG
CGTTCGATAGGCGACGATTAGTCTACGTCTGTAGACACAATGTTCCACTTAGCTGAGGATCCCTCCATTACAAATTTTCAGCCG
GCCGTCAACCACGGTCAACCACCGGGTCTGTGGGCCCCGAAGATTTTCGACTTGAGGCTCTGCCAGATTTTCGTAATGGTTTTCCA
CTTTGCAAAACGTGATTTTGGCCCCCTTCAGAGCTAGTCAGTTCTACCCACCCACTGTCATCGTTATCTAGACTGTCATTCTTA
AAAAACGCGCCCTCATCCAATGTGTCTCTCGTGTAGAGGTACTTGCCCTTTTCAGTTGAGCTTGAGACGCGAAGATACCCCC
CCACCTTTTCATCTGCGGACCAACCGTTCGACCACTTCGAACCTTTAGTAAAGGCTGGGCTTTTCAGTTTCATCGGCCATATTGATAC
CCAAAGTACCGTTCGCGCCTGATTAAACACGAAGCGGTGCGGACTTAAGGAGGGAGAATACCGAAAATCCGGCAGTTCAAATTTA
GCACTTACAATTTTGTGCACCAACAAAGCGTAGTTTCGCCAGTACGCTTCATCATCGCGGGGAAAGTATATCTAATGTATTT
CTGAGCATCATCTTCATCGCGCTGAGGGCTTGACGGCTTGAACGACCTCGTCCAAACGAGATTTCTATCGCTGGATCTAACG
CGTATTGACGGGCTGTCGCTCAAGAGCGTTCGATCTTGATTTGAAGCGCTCCACCTCAGCTGGAGACTCTGGTGTCTCAGGC
TCCAAGTCATGAGGCACACTTGAAATAGATACATTCCTCAACTCGCCCCACGGGCCCCACTCACTCACAGGGTCTGTAAGATC
TGCTTTGGCGTGTCTGGCGTTGTAAAGCGCTCTCTGATCCTCCTTGGGAGCATTTTTTCCCGTTCCATCTGTAAAAATTTGCG
CTTTCAAGTTGTTCAATGTCTGTTATTTTGGATTTCTCATGGTTCGGCTTCAAGCTGCGCACTTCTCTCGGATCAAGTGTCTCG
ACCAGGTAAGGCGCGTGTGGATCATGGAAGATCAAAAAAATTTGTGGTGGGAGTTTCGCTCATCGTGGTGGCCCTCTCTACGTTT
CATGTTAAAAAGACAATCGCACTCCACTTCTTACCGCAAGCACTTATCCGGGGTGGCCTCTGCACCATATCGAAATAGCGGCG
TCGTCACCACTGACATATATGCCAGTTGCCAACGCTTAAAATCAGTCATCCATTTTCAGCGCGAAGCTTACTCTGAGCACAGC
AGCCTTGTACTGCGAAGCGTCCGGACAAACTGGAGAGTATTTGCCAGTGATGGCCTCTTCGCAACACAAGGCTGTCTTACCC
AGGCTTGGTGAAAAACGCTGACCCGTAGCTCGCAGCCCTCAGGCAACTTCTTCGAACGGCAGCCCCACATAGTTCTCGGCAA
TGTTCAACAGGCCCGCGGCGAGGTCAGGAAGTACTCGCGGTGAGCTTCTTCGATCTTCTGGTCCCAGGCGTCTTGTGGCTA
CCGAAGTCATGCAGCAGTTGGGTTCATGAACAGCTGAAGCGCTCGCCCTTCCACACGCGGCGCAGTGCCAGCGGCGAGTATTG

CGCAAGCAGGTCGACGCGCCCTTCGTGGTACACCTTGACCAGAATGCGGTACAGGTAGTTGACGTCGGAGGCCGCCAGGTTAA
GGCCTTTGGCACCCGT

86>chr1:4110178-4114158

PP3616-PP3617-PP3618-PP3619

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein



623	-1	AGGGATAGGGCCTGCT	7.14
1443	-1	GGGCATAGCTGGTGCT	9.99
1648	-1	AGGCAGATGGCGTGCA	7.93
1782	1	TGGTATGGCATCTGCC	8.41
2489	-1	GGGCATAGCTGGTGCT	9.99 esta y
2828	1	TGGTATGGCATCTGCC	8.41 esta secuencia estan repetida identica dos veces¿Duplicacion del gen?

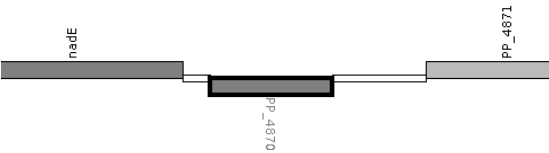
GTGTTTCGGGGTGATCGGTGCAGCGGCGGCAACGTTGGTTCAGCGTACGGGCAACGCAAAAGGCCGTCATGCTGAGATTAAGTGC
CACAGCGCCGGGCATGGCCTTTGGCAATGGGGTTATCAAGTTT'TTGTAGTAGCAATCTGTTTGC GCGTTTAGCCGGATACCCGG
CGATTGCGCTGGGTTTTTTCGCGGACGGTACTAAGGCGCTACGACAGTACGAAAATGGTGATCTAACTGCAGCCGGTTACACT
GTGGCGGGTGATTACCATGGCTATTGGTTCCGCTGTCGTCCTTGAAGCAGGACTTGCAATTGCAGGCGTGACATCGGTTGT
GCCCTTTGCCGGATGGGCCGCCGCTGCCCTTGTCCTCGTAGGTGTAGCCATCATCGCAGGAGGCCCTCTACCTACACGCCAAGG
CACATGAACGCCTTCACAGCCCAATAGAACTGTGGGCAGCACGATGACATATTCGGCAATCGCATCAATGAGAGAGGCGCAC
GCCGACATCAACTTGGACTTTGACAAAAAAGTGCCTGCTTTCACCTCAGTAAACGAAATTAAGGCTTGGCACAATGAACA
TTACGGGCCCCAAGCTACTATCCGCGGAGCAGGCCCTATCCCTCGGCATAACTTAAAGCCGACACCCGATGGCATCAGAATAACC
ACTGGTCGCGCCCAAAATTGGACAGCTATCACACATAACGAAGTAGCCACCCCCCAACCAACCGTAGAGTTTACAGTGCTGCTG
CCTGCATTTCAGGCTAGGCGTAAGTGAATGGTCAGGAAGTTTGTAGCTCCGTCCGTGACAACCACGGAATTGACGTTTTTCCAAT
CAGCCCCAGCCGCCACCTCGTAGATGCTGGCTTAGTTCTACATTTTCGAAAACACACTCGCCAACCAAAATCATTCTCACTTC
ATCTAACCTACAACGCCAATCAAGGCCTGGACGAAGACAATGAGACCCTGTCAATTTTTTCGTCTGGAGCGCTGATCATGGCAA
CCATCTGGATATTCAACTCAATGTGACTCTGGACACAAGCCCTCTATCACAGGGCAACTATTAAGCTTATCTGACACCATT
TTATGCTTAAGGAATCCATGCTGACAGCTCTGTCTTTCATGGGAAAGCTGTATTGCGCGATAACTGTTCTGTCAATTGCCGG
CTTTTACCCATATTTACTATCCAGGGATATATGGCGCATGTACGAAACCGCTCCATTATTAGCGACTGGATTCTTGCTTATGC
CTTTCACTTTCTACCTTTTCTCTCATTTATCGAATATATTTTATAAAACGCTTATCAAGCTTCTGCTTCAATCGGGCGACCCAA
AAAATCTACTATCAACGTTTAAAGCAAGTACTGGTCTTTTGTAGTGGAGCAATACCGGCGGTGGTATTTTTTAAGCGTACGGAATA
CGGCGGCTCATCATTCAGCACCAGCTATGCCCTCGCCTTCGCCCCCGCCGGGAAGACGGCAGCCTGCATCAAAAAGACTGCC
TCTGGGTGCAGAGTAACGAACCCACCGAACCCGGCGTCAAGCATGTGCGCGAGGTATGGGAATACCTCCGCCACTTCATGGAC
CACGGCCCCGACAACTCCCCCGCCCGGTGAACCAACTGGTGGCACAAGCCACTGACAGCCATCTGCTTACCCCGGCAGAG
AGCCTGGCGCCACTACGCCCCCTGGCGAACCGGCGAGCCCGGTGAAATGCAGGGTAAAAAGAACTGGCAATTGCCGTTCTGGG
CCGTGCTGTTCCCTTCAACTTCTCCGTGCGCCTCTGCTGGTATGGCATCTGCCGCTGTTCAACGTCCGAGCAGCGCCACCG
CCACCCGAAGCATTTGAGGAGGCCCCAGCGCATTCACCCAAAAAGGAAAGCGTACATGACGACACCTCCGTGAGCAGCGCT
ACCTCAGGCGCTGTCTGCAGTTCACGCGTACCAGCTCCGTGACGTTGACCTACACCAACGCGCCATGCACCCGCGACTTCCCGG
CCATGGCTGAGACCTCTGCAATTTTTCGTCTGGAGCGCTGATCATGGCAACCATCTGGATATTCAACTCAAGCTCAAGTTTCA
GGCATAAACCCGCTATTGTGCGGGCAACTATCAAACTTGTCAAAAACACCTTATGCCTGAGAAACCCCTGGGTAACAAGACTCA
GTTTTTATGGGAAAGCTGTACTGTGCAATGACCATTGCGCTCGTCATCTTACCTACCTTACTTACTACCAAGTGAAGCCTG
GAACCCATACACCTTTAGTTATACCTTTATCCTCCTTACACTAATTGCACCTTTAATCTTCTCCATTCTTAGCCTATCGAA
TATATTTTATAAAACGCTTATCAATTTTCTGCTTCAATCGATCAACCCAAAAAATCTACTACCAACGTTTGAAGCAAGGTACTC
GTATTTCGAATGGGCCAACACCGGAGGTGGCATTTTCAAGCGCACCGAATACGGCGGCTCATCGTTTACGACAGCTATGCCCT
CGCCTTCGCCCCCGCCGGGAAGACGGCAGCCTGCATCAAAAAGACTGCCTCTGGGTGACAGCAACGAACCCACCGAACCCG
GCGTCAAGCATGTGGCCGAAGTGTGGGAATACCTGCGCCACTTCATGGACCACGGCCCGGACAACTCCCCCGCCCGGTGAA
CCCAACTGGTGGCACAAGCCACTTCACGCCATCTGCCTGACCCCGGCAAGCCTGGCGCCACTATGCCCTTGGCGAACCAGG
CGAGCCCGGTGAAATGCAGGGCAAAAAGAACTGGCAATTGCCGTTCTGGGCGGTGCTGTTTCCCTTACAACCTCTCCGTGCGCC
TCTGCTGGTATGGCATCTGCCGCTGTTCAACGTCCGAGCAGCGCCACCGCCTCCCGAAGCATTGAGGAGGCCCCAGCGCAT
TCAACCCAAAGGAAACGCACATGACGACACCTCTGTGACAGCGCTACCTCCGGGCCCTGTCTGCAGTCACGCGTCCCATC
CTGACGGGTGCACTACATGGCACCTTAAGCACCTTGGACTTCGACAGTAAGGCAATTCCTCAGATACTGAGCCGACCTGCTAC
TTAACTAGAATCGATACAGCCAGAGCAAAAAGCGGCACCTCTATTAATAAATTTCTTACCAAAACCAAGGCTTATCCGCCAACAC
TCATTCAATCTCAACCTTTCATGTCGAGAGGTAGCGCCGTGGCCACAACATGGTTATTTAGCCACATGAAAACACTTATATT
AAACCAAAAAATCCACGGACAAAATCAGCAAAAATAACCACAACATTAGCGCAGCTTAGAAATCCATGGGTTTCCGACTCAGCCTT
CATGGCCAAGATGTATACCGCCACGATTTTAGCCATCGCGATTGTATCCTACACAGGCTTTTTTACCCACTCAATCAATTACC
AACAGGAAGGGGCATATGTATTTATTGCAATACAGTCCCTCGGACCATTATTTTTTACTCCATTCTAGCCTACCGTCTTTT
TTAATAAAAAAACTCTTGACATATACCTCAATAGAGCCACCAAAAAAATATATTACAAACGCATAAATACTACTCATAGTTAT
TGATTGGAATAACACTGGAGGCGGTATTTTCAAACGCACAGAATTCGGCGGCTCCTACTTCACCACCAGCTATGCCCTCGCCT
TCGCCCCCGCCGGGAAGACGGCAGCCTGCACCAAAAAGACTGCCTGTGGGTGGACAGCAACGAACCCACCGAACCCGGCGTC
AAGCATGTGCGCGAAGTGTGGGAATACCTGCGCCACTTCATGGACCACGGCCCGGACAACTCCCCCGCCCGGTGAACCCAA

CTGGTGGCACAAGCCACTTCACGCCATCTGCCTGACCCCGGCAGAAAGCCTGGCGCCACTATGCCCCCTGGCGAACC GGCGAGC
CCGGTGAAATGCAGGGCAAAAAGAACTGGCAATTGCCGTTCTGGGCAGTGCTGTTCCCTTACAACCTGACCGTCGCTCT

87>chr1:5536474-5538216

PP4869-PP4870-PP4871

nadE(NAD synthetase)- azurin- hypothetical protein



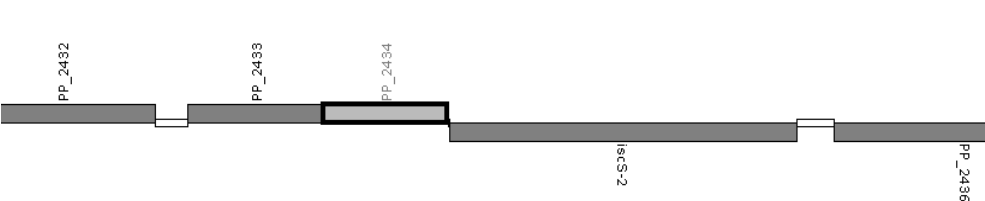
No promoters found scoring over 7

GAGCATGACGCCCAGGCATGCCTGGAAGTTATCAAGGCAGATGAAGTTCACACGGTGGATATCGCCCCGGCAGTGCGTGCATT
GGCAGCTGAAGTGGCGGCGTTGAAGAACGGCTCGCCGACGTTGGTGGACTTCGTGGTGGGCAACGTCAAGGCACGCACCCGGA
TGGTCGCCCAGTACACCATCGCTGGCGCCCGCGCAGGTCTGGTGATCGGTACCGACCACGCGGCCGAGGCAGTAATGGGCTTC
TTTACCAAGTTTGGTGATGGTGCCTCGCGACCTCGCGCCGTTGAGTGGGCTGGTGAAGAATCAGGTGCGGGCGATTGCGCGCAG
CTTCGGTGCGCCGAGTCACTGGTGGAAAAGTGCCAACGGCCGACCTGGAAGACCTGGAGCCGGGCAAGCCGGACGAGGCGT
CACATGGCGTGACCTACGCGCAGATCGATGCCCTTCTGCATGGGCAGCCGGTTGACCAGGCAGCGTTCGACATCATCGTCGCC
ACCTACCGCAAGACCCAGCACAAGCGGAACCTGCCGTTTCGCTCCTTGATAAGTGGCCTGCAGGAGCGGGTTCACCCGCGAATA
CGAGGGTGAACCCACCGACGCATTCGCGGGTGAACCCGCTCCTGCAGGGTTCGCCGTCAGCCTTTGATTACTTGACGATGACC
TTGCCTTTCATCATCGAGATGTGGCCCGGAAGGTGCAGAAGAAGCTGTAGTCACCACCGGCTTCAGCTTGGAAGTGTGAA
CTTCACTTCGGTTTCTTTCTCAGGCGCGCCGATCATCTTGGTGTGGGCGATGATCGCGGCGTTGTGACGCTTCAGATAGTCCT
TATCCAGACCCCTGACTCATGCCTTCGGTGGCAATGGCCTGCATGTGCGGAGTCTTGTCTGATCACCAGGTTGTGGCCCATGACG
TTCTTCGGCAGGTTGCCAGAGTGGGTGAGTTTGACGGTGAATTCCTTGACGCTCTTGTGACAGTGAATTCCTTGCTGGTGTA
GGACATCTGGTCAGTTCGAGTCGACAGTGACCGAGCACTCGGCGGCGAAGACAGAAGCGCTGGCGAGGGTCAGCAGGGATACCG
CTACAGCTTTCGCAAAACATCATGAATCTCCTTGGCAGGGTTTTATCAATTGCGAGACTGCCTGAAACCGTTCAGCCCCCTGCT
GATATGGGTCAAGGGGGCGTCAAGAGGCCAGCCAGTAGAATTGTTCAATGGATTGTATACAACAAATCTAAGGGCACATCATG
CCCTTTTATTGGACGATGAGACAACCTCTCATTTAGGAGCAATACCAATGCCCATCTCCAACCTTCTCAATAGCCTGCTCGC
CGCTACGCCCACGGGGCCACAGGAGCCATCTGCGAATCTCCCGGCCAGAATGAACCGGCCCTTGGAAAGTGACCGGCATGCGCC
GTAACCTGTGCGCCTCAGTGACAGGAGATGAGCAATGCCCGTACGTTCCGTTTGTGTGTTCTGCGGCGCCAGCATGGGCGCCA
ACCCGTGCTACCGTGAAGCAGCCGTGCGCTGGGCCAGGCCATTGCCCGCCGCGGCTTGACCCTGGTGTATGGCGGTGGCGCG
GTCGGCTTGATGGGTGTGGTGGCCGACGCGGCCATGGCGGCCGTTGGCGAAGTGGTTCGGGATCATCCCGCAGAGCCTGCTGGA
CGCTGAAGTCGGCCACAAGGGCCTGACCCGCCTGGAAGTGGTGGATGGCATGCATGCGCGCAAGGCCCGCATGGCCGAGCTG

88>chr1:2779825-2782639

PP2432-PP2433-PP2434-PP2435-PP2436

dihydropteridine reductase - hypothetical protein- RES domain-containing protein- iscS-2 (cysteine desulfurase)- LysR family
transcriptional regulator



333	1	TGGCAAAGCCCTGGCT	12.12
1579	1	TGGGAATGCGTTGCT	8.50
1657	-1	TGGCAAAGACGCGTGG	10.06
2649	1	TGGCACCTACCGGCA	8.19

CTACGTCAACCTGCACCGCTTCGACCAGAAGGATGTGCAGCACTGGATGGAAAAGCAGACCTACCTGGCGTTGGGTACTGCCT
TGCTGGGTGCGGCGGCGCATGGGCTGGATGCCACGCCGATCGAGGGCTTCGACAGCAAGGTCTTCGATGCCGAACCTGGGTTTG
CGTGAGCGTGGGTTACCAAGTGTGGTGATCCTGAGCCTGGGTTACCGCAGCGAGGCGGATTTCAACGCCGGGCTGAACAAGTC
GCGGTTCGCCGCATCGCAAGTGTTCACCTTCCTCTGAAGTTTTTGGGGCCGCTTTGCGGCCCTGGCAATGCTGGCGGTCAACC
TGGCAAAGCCCTGGCTTCGACCGCCCCGACCCGGCAAACTGGCAATGACCCGGCATATACCGCATACTTGTGCGGCAATGCCGA
AAAGGAGCATGCCATGCTTGGCGAAGTGCTTCGCGACAACGGTTACCACGAGTACCGGGCGCGCCTGCAGGCGCTGCTGGACA
TTCCCGAGCTTGCCAGCGATTTGAAATCCACACCCGCATCACCAGTGGTTTGGCGCCACCTGGTTGGTAAAGCTGACCGAA
CGCGGTGTGCTCACGCCGGTGGAGCGCGACCAAGATCATCCCGCTGCGCACCCCTCAAATCCCGTATCGAGCGTGACCAACCGCT
GACCGTGGATGAGAGCGATCGGCTGTTCCGCTCGGCCACATCACCGCCATGGCCGAGGCCGTGTTGGTGAAGCGGGCAAGG
CCAAACGCTGGCTTTCGAAGCCCAAGGAACGCTTCTCGGGGTGACGCCGATGCAGATGCTCACCACCCAGCAAGGCACACG
CAGGTCAAGAAAATGCTGCTGCAGATTGCCGAGGGCTATGGCCTGTGATTTTGTGGCGAATCAGCGCCTATGCAGACTTGAGC
GGTACGGGGGGCTTGGCTGTAAGTGGCCGCTGGCACAGGCGGGTCGGCCGGTGGTGTATGCCGCCACAGCCCTCCTGGGGC

GATGCTGGAAGTGTGGTGCACCTGGAGATCGACCCCGAGGATTTCCCTACCACCATGCGCTTGCTTCGCATCGAACTGCCCG
ACACGGTTTCCCAGGCGCAGTTGCCCCGCTTTGCGACCCCGGCTGGTCTGCTCAGCCTGAGTTGACCCGAACGCTGGGCAATCGC
TTTCTGGATGACTGTTTCGGCATTGCTGCTGCCGGTGCCAAAGCGCGATCATGCCAGCACCACCAATTACCTGTTCAACCCACG
GCACCCGCAGGCGCAGAGCGCGAAAAATCCAGGTTGAGGATTTACGCCCGGACAGCCGCTGTTCTAGGGCGTGGTCACCACAG
TGCTGCCGATGCTGCGCGCAGCACCCCGGCCAAACACGTCGAGTGCCCTTGTCACGTCGCGCTCGGTGCTGAAACGGCCGATGC
TCAAACGCACACTGTTGCGAGCCTGACGCTCATCCAGCCCCAGTGCCAGCAGCACATGCGAGGCAGCGTTGCTCGCCGAGTTG
CAGGCCGAGGTGGTCGACAAGGCCAGCTCGCCGGCCAGCGCCGTGCTGTTGAAGCCCTTGCTGTGATGCACAGGTTCAAGGT
A**TGGGGAATGCGTTGCT**TAGCGCAGCCGTTTCAAGGTAACGCCAGGCATGGCCAGCAGGCCTGTG**CGCAGGCGTCTTGCCA**GTT
GCTCAAGGCGCTGGTGCTCGCTGTGCGCCAGGTTGGCCGGCCAAAGGCAAAGGCACTGCCCATGCCCGCTATCTGATGGGTGCGC
AGGGTGCCGGAACGCAGGCCCTGCTCATGGCCGCCGCCGTGCATCTGCGCACGCATCAGCACGCGAGCGCGCGGCCGACATA
CAGCGCGCCGATGCCTTTCGGCCCCGTAGACCTTGTGCGCCGAAAAAGACATCAGGTCCACGGCCATCGTACGCAGGTCGATAG
CCAGCTTACCCACGGCCTGCGCGGCATCCACGTGCAGCAGGGCACCGTGGGCACGCACCTGCTCGCCGATCGCGGCAAAATCG
GTGACCGTGCCAGTTTCGTTGTTGACCGCCATCAGCGATACCAGGCGGGTGTCAGCGCGCAACGCTGCCTGCACACTTGCAGG
CTGGATCAGGCCATCGGCATCCGCTGCCAGGCGGGTGACGGCCAGCCCTGACGTTCCAGCTCGGCCACGGTGTGAGACACGG
CCTTGTTGTTCCAGCTGGCTGGTGATCAGGTGTCCGGGCTGGCCGATGCCCTTGGGCAATACCCCTGAGCGCCAGGTTGTTGGAC
TCGGTGCAGCCCCGAGGTCCATACCAGCTGCTCGGCGTGCGCGCCGACGCACTCGGCGACTTGCTGGCGCGCCTGCTCCACGGC
GTGACGTGCAGCCTGGCCGAAGGCGTGCGCGCTGGACGCCGGGTTGCCGAAGTTGGCTGGTTACCCAGGCAGGCGAGCATGG
TTTCGATAACCCGGTCTGTCGACGGGGTAGTGCGCGGCTAATCGAAGTAGAGTGGGGCGCTAGGCATTGAGGGCAGGTCCGTG
TCAGTGGCCGTGAAATCGGCGATCATTGACGTAAGCGTACCTGCCAACAGCGGTATTTTTCGTTTCCCTCAGGTGATTTCG
GATTATTTTAGAAAAAATCTCTATCGAAGAACTTTTCATGGAATTTTCTACTTTGCTTGGTGAGGGGCTATTAA**TGGCACCT**
CACCGGCACCTT**CAGGCGTGCTCCAGAGCCTTTTCTTCCTCTGCCACCACGCGCTCGCACAATTCCGGTGATCTGTTTCGCGCAT**
CCAGCGTTGGCCGGGTCTTGGTTCGTTTTCATGCCAGTACAGGTGCGTTTCCAGTGCAGGGACCTCCACCGG

89>chr1:2638076-2641119
PP2308-PP2309-PP2310-PP2311 MCP chemotaxis
acyl-CoA thioesterase- hypothetical protein- methyl-accepting chemotaxis sensory transducer- TatD family hydrolase



806	1	TGGCCTTGCGCTGCA	9.32
1005	1	TGGGCAGGCGTTTGCT	8.80
1478	-1	TGGCCAAACGCGTGCA	9.12
2636	-1	GGGCACAATGATGGCA	9.56 buena orientacion y disposicion
2990	-1	TGGACCTGGACCTGCA	7.21

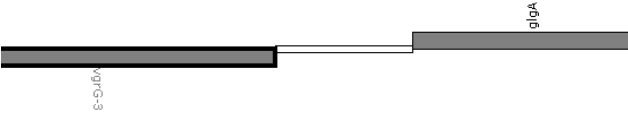
CGCGGCGGCGGATGTGCCCATCCGCTTCGAGGTGGAGGTTTTGCGCGAAGGCAAGGCGGTTAGCACGTTGCTGGGCGCGCTG
TTCAGGATGGCCAGGTGGTGACTTTGGTGACAGGGCAATTTTCGGTGCGGGCCGCCCTTCGGTGGTTCGAAGTGCCGGCGTTGCCG
GCCATCGAAATGCTGCGCTCGATGAGGCGGCCCGGAGTTGCCCTATATCAAAGGCGTTACCCCTGAGTTTCATGCGGCACGT
GGCCCTGCGCTGGGCAGTAGGTGGGCTGCCGTTTCAGTGGCAATCAGTCGCGCAAGATGGGCGGCTGGGTGCGCTTTCGCGGATG
TGGTGGAAAGAACAGGTGAACGAGGCGCACCTGTTGGCGTTGGTTCGATGCCCTGGCCGCCAGCCCTCATGCCGTTTCTCAAGCAG
CCCGCTGCGGGCAGTACGTTGACCTGGACCATCGAGTTTCATCCAGCCAACGGCGAAGCTGTGACCCCTGGATTGGTGCCGGTA
CTGTGTGGAGACCGAGCATGCGCGGGATGGCTATGGGCATGCTGCTGCGGCGTTGTGGACGGCGCAGGGCGAGTTGTTGGCGT
TGAGCCGGCAGACCGTACCGTTTTTCGCTTGACCTTGCAAGGCTGCTCACAAGCAGCGCTCCGGCAGCTGGCTCAGTGCCGG
TGCTTGTGCGCTCCCGCCAGGCCCTCCACCAGGCCCCGCTCACCACAAAGCGCGGAAAGGTGATGAATGCTCGGTGAGTAA
GCGCTGCACGGCATCTTGCGGTTGGCGAACGTTTCGGGTGCTGGGCTTCAAGGCGG**TGGCCTTGCGCTGCA**GGCCCAACG
CTGCGATCAAGGCAATCACACCCACCGCATCTGGCCGAGTTCGAAACCAAGACAGACCGGACAGCAGCAGTGTCCCCAGA
ATGAACAACGCGCACAGCATCAGGTGCAACACCGAGTTGGCCGGGTGGCGGTGATTGTGGTGGTAGCCGCGCATTGCCAGGC
GGGAAGAT**TGGGCAGGCGTTTGCT**CATGGGGATTTCCTCTCGGTTCATGCCCAAAGCTTAGTGCGGCCCCCAAGCGGGGGCCAA
TCGAACCTGGCTATGGTGACTATAGCTTGAGCTGGCCAATGGCCTTGTTTCAGTTTCGCCGGCCAGGGTCGCCAGTTTCGCTGCTG
GTGGTGCGCCGAACCGACCGTCTGCTGCACGGTCCGCTCGGTGACATCGCGGATGCTGACCACCGCGCGGTTTCATTTCTCGGC
TACCTGGCTTTGCTGCTCGGCCGCTACAGCGATCTGGGTATTGCTTTTCGCGCATCTGCGCCACGGCACCGGTGATTTTCAGCCA
GCGCCTCACCGGCTTCTGTGCTGACGCACACAGTCGTCGGCCTTGTTACGAGCTCTCCTGCATGAATCCACCGCATCGCGG
GTGCCCCACTGCAGGGCCGAAACCATGGTGGTGATCTCATCCGTGGAGGTT**TGCACGCGTTTGGCCA**GGTTGCGCACTTCATC
GGCCACCACGGCAAAGCCACGGCCTAGGTGCGCGGCGCGCGCGGCTTCGATGGCAGCGTTAAGCGCCAGCAAGTTGGTCTGTT
CGGCAATACTGTGGATCACACTGACTACACCGTTGATCTTCTGGCTGTCTTCGGCTAGTTGTGCAATCATCTCGGCAGTTTGT
TGCACGCCGCTGGAAAGCCCGGAAATCGAATCCTGCACTCGGCTGACTACCGCTTGGCCGCTGCCGGCCAAAGGTGTGCGCGGT
TTGTGACAAATCGCGGGTGGCACCGGCGTGCTGGGCAATGTGGTGCACGGTCGCCGACATTTTCGTTGATGGCAGTGGCGGCCT
GGTCCGTTTCACTCTGCTGGCCGAGCATGCCATGGCGTACGTGCTCATGCTGGCGGCCAGGCGTGCAGCGCCGAGTCCAGC
TGTGCTGCGCTGTGGGCGACGGTGCTGACCACGCGGTGATAGGTGGACTGCATGGCGTTGAAGGCTCCGGCCATCTGGCCGAC
CTCGTCGCCACTGGCTAGCGGTACGCGGGCCGACAGGTGCGCCGTTTTTTTCCAGTGCAGCATCACGTCCTTGAGGGTGTGTA
GTTGGCTGAGCAGGAAGCGGATCAGCAGTTGCGAGGCGCCGAGCATGGCCAGCATCAGGATCAGCACACACACCGCGTAATTG
CTGAAGCGATCGAAGAAGACCTGGCGCAGGCTGGGCGACTGGGCCAGCACAGCCAACTGCTGGTTCGCCATTGCGCAATACCTG
TGCGCCACGCGGCGGGTTTTACCGAGGATCCAGGCGCTCGGCAATGCTACCCAGCCTTGGGCGTTGCGCAGGGCATCGAGCG
CCTCCCCGGCGTAGGTTGGCGTTTGCCCGGTTGACCAACTGATGACGTTGGCCGGGCGTGGCAGTGCTTGCCCGGCTGGCCAG

CGGGCCAGCAACTGGGCTTGCGCGGCCGCTGGGCCTGAGCCGCTCTGCACGTGCGCGTTGCTCCAGGTGCACGGCGTACAG
CACCAGCAGCAAGGTGGTGACAAAGGCCACTGCGTTGACGGCCAGAATTTGTACTTCAGGGAAACATTGCTAAGCCAGGCAC
CCATGGGCAAGTCTTCTCTGAGTTGAGCGGAAACAATATTGGCAAGG**TGCCATCATTTGTGCC**ACATCCACCTGGACATGTGT
TGATGCATATCAACTGTGTTCAACCGCCCCGCAACAACACGCGAGACTCAGGGGAGCTGGAAAAAATCGCGCGCGCTTGCCGT
GGTATGCGCCCGCTGTGCTCGGCTGATTCACCGCGATGCAAGGCCACCTCGCGCAGTACCTCCGGCAAGAACGCCGCGCTCGT
TGCGCCCGCTCTTGGGCTTGGGCGCAAGCTGCGCGGCAGCAGGTAGGGCGCGTTCGCTTTCCAGCATAAGCCGGCCTTCAGGG
ATGTTGCCACCAGCGGGTGCAAGTGAGTGCCGCGCGCTTCGTGCGAGATCCAGCCGTAATGCCGAT**TGCAGGTCCAGGTCC**
CAGGTAGGCGAACAGCGCCTCGCGCTCACCAGTGAAGCAGTGCACCACCGCGCCG

90>chr1:4563477-4564999 OJO s54 bien alineadas

PP4049-PP4050

vgrG3 protein- glgA (glycogen synthase)



Position	Score	Sequence
996	1	CGGCCCGCCATTGCT
1181	1	TGGAACGCACTACGCA

CCCTGACGCTTGAACATGAGTTCAAGAACTCGCGCACGGTTTTCTGCTGAAAGATCCGCCAGTTCGAACGCAACCGCGCGCG
GGCCAGCTGCGGCTCGACCACGGCGTGGTAGCGCGTGCGACAAAAGCCGGTTTCGCCCTGGCTGAAGGCACTGACTAGGCCAT
GCACATGACGCAGTGGCCGCTCTGCGCTGTAAAGGGTGAATAGCGCAGGCTTGTTCGAGGACGTGGCCGAAATCGATATCACTT
TCGTAGCTCACAAGTTCCAGTTTCAGCACAAATGGCTGGTTGAGGGTTTCATCCAGCTTGAATGAAACCACTTCAAATTCGGT
GCGCCCGCGCGACGCTTGAAAACTGAAGCGAAAGTCGGACTGTTTCATGAGTTGCTCTACCCGCCATCATGTTTGCCGGCGAA
AAACAACCACACCCCTGGCTTTCTTCAAGATGAGAATATCGAACTAAATTGGCCCGCCACCAAGGTTCAAGCCCGCTAGATGCT
TGGCATTGCGGGCTTCAACCCATGACGGCGATCAGGATGAGGCAGTGGATTGAAGAGCAACTTAAACCGTATCACCATGACAA
GACAGGAACGATGGGTTTAAATATAAATGGAGATTCCGCAGGCAATTTCTTACAGCATGAACTTACAACCTTTTATCATACGAT
CCGTTTGCCTGACTGCCGACCTGTAACTCAGATAATTATTCGAGCCAACTTTTTGAACCGCTTGGATACTCGCCCTGTGC
AGGGTGTGCGACCGATATAGGATTGGGCACATCCGGACATGCACCAGCCAGCCCCATTTGGCGGTACGAATACGCACCAAAAC
AGTGCGCAACTGTCATGCATGGGGCAATGCCGTTGCCCCCTCACCTCTCGCGCGCCCTACGTTACCTCCGCTTCAATACGC
CAACGTTTGCCTCTATTCGCGGCATCACAATGGTGACCAGTGGGTACCTTTTTATCTTTTTCTCTCTCTACACTCAGGTTT**C**
GGCCCGCCATTGCTCAATGGAAGAGTGACGAAAAAAGTCGAACTTTACGGAAGCGGGCAGGTGAGGAACCTAAGTAGGCCA
AACGCAAGGGACTTCCCAGCCACGGCCACCAACCAACAGCCCAATCGCTTTCGGCCGGAACGCCGATCGCGCCGCTGCGTGC
GCGCACGACACAGGGGCA**TGGAACGCACTACGCA**GCATTTCAGCAAGCAGAGAGAACCAGCACGAAACATCGCCACGGGTGCCA
GCACCCGACCAAGCATAGGGACGGAGAGAAAGTATGATCAGTGCCGCTGTTCGAGCCTCACGTAGACGCTTTCAAACCGGATAAC
CGCGAGCCGCTCACCCCGGATTTCCGCCACGACAGGCAAGGCACCCGGCGCCAGCGCCAGCACAAACCCGAACAAGCGCAAGAT
TCTGTTCTGTGACCTCGGAAATCGCCGACCTGGTGAAACCCGTGGCTTGGGTGACGTGTCCGCTGCCCTGCCCGTGGCTTGG
CGCACCTGCACGATGTGCGGGTCCCTCAT

91>chr1:672337-674635

PP0573-PP0574-PP0575-PP0576

hypothetical protein- LuxR family transcriptional regulator- hypothetical protein-



Position	Score	Sequence
351	1	AGGAGCAGCCTTTGCA
661	1	TGGCACGCCGGTGGGT
972	-1	TGGTGCAGCCTTGAA
1081	1	AGGCATAGCCCTTGGT
1597	-1	TGGCCATCGTCATGCT
1745	-1	TGGCTTGCTTTGTGCT
1999	-1	TGGCACCGGCTTCGCG
2113	1	TGGCCACGCTATTGCG

GTTTGGCGGGCAGAATTTCCGGCGCGGTTACCCGCGCGATCAGGCGGACGGTGACAAGGGCTGGGGTGTGGCTTACGAGCTCA
ACTACAGCGTGCGCAGTAGATGGCTTGCAGGTTCAACCCATGCGGTGGTGATACCGCTCAGGCCTGGCATAACCGGGGA
CCGGTGGAGGACGCCATCTGGCTTCGCTGGCGCTGGGTGTTTCGGTTAGGGGTGGGCATGTGTTCAATGTGGCGCTGGAAGT
GGCCAAGCCGTTGGCGGATGTGGCGCTGGATAGCCTGGACCGTGGGCTCGGCTGTGCTTGAACCTGGCGATCCAGTTGTAGC
AGGCAACTATGGGCTTGC**AGGAGCAGCCTTTGCA**GCACGAGGCCGCTCCAGATGGTAAGCCGAGCCTTCACTCAATGGGCTCGT
GAACCGCTGGTGACGGGTGACGAGCTGGGGGTGACGCCAGGCCAGTGGGTGCGGTTGTGCATATCGCTCAAACGCAATA
CCTGAGACATAGAGCTTCACGGTGTTTTCGGTAAATGCCAGTTTCGCGAGGCGATCTGGTAATTGGTCTTGCCCTTGCCCTACC
AGGCGCGCCACTTCCAGCTGGCGTGGAGACAGTTTCTCGAACGCTGCTGGCAGCTCGCTTTCGCTTCTCTGTCATCAC**TGGC**
ACGCCGGTGGGTGCCTTGGCCACGGGCTTTTTCCAGGTCCTGATACAGTTTCGTCACCGACTCGGCCAGTTCTTGCAAGCGCT
GGTTCAACCCACCCAGATCACGGAGGTTGCGCTGGCGCTCCAGCAAAGCCGCTTCTTGCCGACGGACGCCTGCCAGCAGTTCA
TCAAGGTCCATCGGCTTCTGGTAGTAATCGGCAAACCTTCGCGTATCGCCCGGATCAAGTCTGTTTCTCGGCACGCCCTGT
CAACATGATGGCTTCAACGTGCGCTGGCTGCCGTTGATTTC**TTCAAGGCGCGCACCA**GCTCGATGCCATCCCGATCGGGCA

TGTGCAGGTCACAGATGAGCAAGCCGATGGTCGGGTCTGCCACATAGTGCTCGATGGCTTCGTCGGTTGAGAGGGCTGTAACG
CAGGCATAGCCCTTGCTTTTCGAGGAATTCAGCTAGCTGTTTCGACAATGACCGGTTGGTCATCAACCACCAACACCTTTACTTC
ACTACTGATCTGGACACGATCAACTCCCTGTTCTTATACGCCCTGCTCCCGTGCCAGACGCTCTGACAGCTTAAAGTAGTC
GCACTCAGCGAATATGTACAAGGTCTGTACAAGTCTACGACTACTGGAAGGGTTATTGGATCCATACGGCCGTTAGAAGAAA
ACCTGATAACACATAGGGGACGAACGCCTGCTTGTGCCCCATTTCTTCGGTCAGGGCCTGCAAACGCTTCTTTACCTTGGGGT
TGAGCAGAGTCCACAGGCGGCGGGTTCAGTAGCCAGACCAGTACAGTGACACCCGCGCCAATGAAGGTGCCGAGCACATAT
TGCGGGCTGGTGGCCAGGGCCAGGGCGCCCATCAGCTTGACGTCGTCGGCGCCGAAGCGCCGAGCATGTAGCCTGGCAGGGT
CAGCAGCATGACGATGGCCAGCGCCCAACCGGCCTCGCTGGCTTCGGCGCCTATCCAGCTGTGACCAGTGCTGAACAGCCAGG
CCAGGGCGCAGCCAGCCGCCCCAGGGTCAGCACGTTGGATATCTGGCGTTGACGCACATCCTGTTCCGAGCACAAGGCAAGC
CAGCAGGAGAACAATGCTTTGCATTGGCAGGTCGCCTTTCCCAAATGTTGAACACTTCTACCCGGTCAGTCAGGTTTCCTT
AAAAGAAGATAGACGGGAACGTGCGGGGAGTGCGGTTGGCATCGGAAAAAAGGCGTGCGTGGAATGGATTTTGTCTGTAGCTG
ACACAGGCCAGGCCGTTGACGCAGTCTACTCGTAATCGCCATCTATGTAGGCGTGGGGTCACCCGCGAACATCGCGAAGCC
GGTGCCAATGCACCGGGCAATGCTTCGCGGGTAAACCCGCTCCCGCCGGGCCACGGTGCATGCAAAGCCGCGTTCCAACGC
TATTTTTTGTCTGCCCGGTGGGTAGTTGCCAGCACCTTGGCCACGGTATTGCGGATTGCGCTGTTGCGTTCTTCCGGGCTTGG
CGGGTAGTTGTTTCATGATCTGCTCGGCACTGCCGCGCCATACCAGCTTGCCGTACGCCCATCGAACATGTGACCTGGATGG
TGGCGACCTTGTAGTCGACACTGCGGGTTTCGTTGTACATCGGGCCACCCAGTAGC

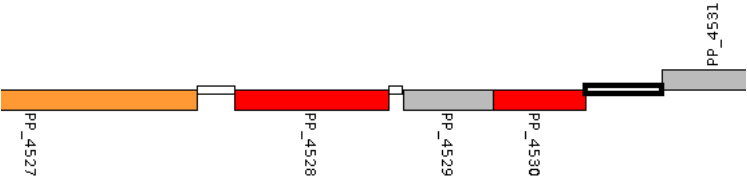
92>chr1:3764338-3766049 M^aAngeles Dieguez perfect match TGTTAC-n29-GTAACA
PP3327-PP3328
Sodium-dicarboxylate symporter- ring-cleaving dioxygenase



Inverted repeat (palindrome): CGATTTCGCA TCGAGAAATCG
1199 1 10.18

CGCGGAAAGCCCGAAGTTGGCGACCGTCACGCCGATCAGGCCAAAGATCCCGATGGGTGAGTAGTGTCATCACGATATGCGTCA
CCTTGAACATCGTCGCGAAATGGCATTGACTACCGCGATCAACGGCATTTCCTTCTCTTTGTCCAGAGCACTTAGCCCAAAG
CCGAACATGACCGAGAAGAACAGGACAGGCAGCAGCTTTCCCTTGCGCCATTGCACCGACGATATTGTCCGGGATGATGTTGAG
GATGACTTGACCAAACCCAGTGTTCCTCCGAGGTAGACGGAAGCGAGAGCGTTTGGGTGTTTGCCAGGGTCGTCAAGTTGGCAC
CTACGCCTGGCTGCGCAAGATTGCCAACCCAGCAGGCCACACAATTGCGATGCTGGTCACGACGAAGAAGTAGAACAGGGCTTT
CACCCCGACCCGCCCTATCGCCTTGCTATCACCATTGCCTGCGATCGCGCCGACCATGCACGCGAATACGAGGGGTACGACAA
TCATCTTCATCATCTTGATGAAAAATGTCGCCGACGGGTGTAAAAGGCTGCTGATTATCCAGGCTTTATACTCGGGAAAGAAA
TTGAGAAGTGCCCCACTACAACCCCGAGCACAAGACCTGCAATAATTCTAGTCACCAGACTAGTCTTTGCCATACGTCCTCC
AGTTATTATAATTTGGACTGTACATTGGCCGGCAAAAATGCCAAACACATCGTTGGAGCCTGTTATTTTTATTGAGTGGCCAC
TCACCGATACACGCCTCTTATCTCACGCAGACAAAGCGGGAGGCGCGTCCCGAAGGTTTATGCCAATCAGGTGGCAAATACAC
CTTCAAAGTCCTTGAACCCCTTTGATCTCGATCGGGTTGCCACTGGGGTCCAGGAAAAACATCGTTGCTGCTCCCCAGGTTGG
CCCGGAATCGTACAACCGGCGGTATGTGAACTGCACGCCATGAAGCGCCAGGCGGTCTGCCATCGCGAACAGTCATCCAG
ATGCAGCACCAAGCCGATATGCGGCATCAACACTTCATGGTCGCCGACTTTACCAGTACGGGTAGTTGGAAGGAACACCTT
TGTGAAGCGAAATCTGGTGACCGAAGAAATCGTAATCCACATAAGTTTCACTCGTGCGGCCTTCTTTGCAGCCGAGAAATGTTA
CGTAGAAGTTACGAGATGCTTCGAGATCTGTAACAATGGTATGAAACATGAAATAACGATTTTCATAACTGACCTCTTTGGTTT
CTGATAGAATTTTCGGGGAGGTTAGCGTAGCCTCGCGCAAGTGCTAAAGCGCATTTTTTCATCTCTCAGCGAAAGGAAATGTT
TTGGACACTCGATTTCGCAAAAGCCTGATGGCAGTGATAGAGACTGGCTCGATTGCAGCGGCGGCTCGACGGGAAAACCTGAC
AGCACCTGCAGTCAGCCAGCGTATACAAGCCCTCGAGAAATCGCTGGCGTGCGAATCCTGAACCGAAGCGCACATGCTGTG
AACCTACCGAGAAATGCTGTCGTTGCTGCCGAAGATTCGAGATCTGATCCAGGGGGCAGCAGAGCTGAAAGAGGATCTGGAC
ACCAGTAGCCTGTCGGGTATCTCAAGATCGGTGCGATCTCTACAGCGTTGACAGGCATATTGCCAGAGGCCATGAATCAGCT
ATCAAGCATTGCCCCGCAACTGAGGCTACGCATCACGCCAGGGGACTCGCG

93>chr1:5143505-5145297
PP4527-PP4528-PP4529-PP4530-PP4531
hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein



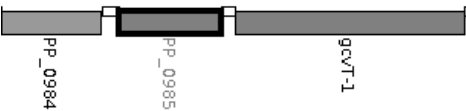
Inverted repeat (palindrome) GCAGCGTTCAGAAAGCTACCGATTATCGGGTTTTGAACGCTGCA
119 -1 TGGTAGGCCTGATGCT 10.64
300 1 AGGCATAAGCAAGGCT 7.06
885 1 TGGCGCAGCAACTGAT 8.74

CAGCCCTTCGGCAATGAACAGAACTCCACCCCGAACAGCCCGCCGCCACCAGCCCTGCGCGCCAGGTGCTGCCGACCTGCT
CCCAGCCACCCCGCCAGCACAGCATCAGGCCTACCA GCACAGCGGCAATGCCATTGCGCAGTGCTGCTTGCATCACCGGCGCG
ATGTCGACGGCGGCGGTCTTGTATCAGTACCTGCTGGCAGCCCGATCAGGCAAAGGCCAGCATTACCTGGAAGGCAAAGGC
GTCTGGGTTCCTTGGGACCGCGCTCATAAGCGGGCCTCTGGGGTGATCGT AGGCATAAGCAAGGCT CGGCAGCGTTTCAAGAC
TACCATTATCGGGTTTTGAACGCTGCACTTGCCAGCCTTAAACGACCTCAAGCAATCTGTGCCTTCGCAGAAACCCGTTTCG
AACGTCGTTTTCTGCCAGGCATCCTCCTGCTCATCCAGCACCTGGCGCGGGTGCTCGAAGCCGGGGATGCTGCTGTCGATCAG
GCTCATCAAGCGCGAGCCCGTTTCGGTCAGGACGAAGTTTTTCGCCATTGCCGCCGTCCTCTTCAGGTCGGCATTCAATGAATC
CGCGCTCGAATAGCAGCTTTTCATACTCGCATGCACGGGTTTTTCAGGTGATCCACGTACCCACCGGCTCACCTTGGCGGCC
AGTGCAGCAGCATGCTGCTCGGCATAGGGCGGGGCGTGAAGCTGTGACCGCGCCGTTCTGCACTTCGTGCAGCAAGCGTTC
GATCAGGTCCAGTCGTAGGCGATGCTCATGGCTACGGGCTCCTGCTGTGGACGAAAGGGGTACACAGGTTGGGACCTGCCAA
GGTTGCCAAGCGTTCCGAAGCGCTTAGCGCTGGCGTTGTTGCGCTTGTCATGTAC TGGCGCAGCAACTGAT TGATGCGGGTCTG
GTAGCCGCTGCCCTGTTTCTTGAACCAGGCGAGGACATCTGAGTCCAGTCGAATGGTCACCGTCTGCTTGGCGGGAACGCGCA
GCTCGGCCTGGCGGAAAAAGTCCCTGGTCCAGTTCAGGGATATCTGATGTGTCGATATCCTTGTCTGCTCCTGTGCGGCCAGGCGG
CTCCAGTCAGTTCTCGATGATTTGGTCATAGTACCTGGCCTCCCGTTTTGGTGGCTTTTCTTGCAGAAATGATGCGTATCACCT
CACCCCGCCTCTCCGTGTACACGACGACACCTATCAGCGCCTTTAGCCATCCTAGGCTGACCCAACGTTCTTTCAGCACATTCC
ACATCCTCATCACGCCGATCAGCATGGGATGGTTGAACATGTGAGGAACGTCGGCAAAGTCGATGCCGTGCTTGCAGATATT
GCTCTGGTTTTTCCCTTCGTCCCATTTCAAAGAACATGGGACGGCCTGTATTTACAGCTGTACATAACAATACCCCTCTTTTCC
TTCGAGACTAGAGCGATGTAGCGTGCTGCTCAACAGCGCTGGAGGACACGGGAGCGTTTCAGAAACGGCATACCACCACCAA
AGAAATCTTCCATCGTTCGAAGCCCTGAATCTCCCTGCCACCCCTCCACCGGCCATCACACCGCCGAGGTTGGA
GGATGAAACCGCTACTGCCCATAGCCTGTGCCGCTGCCCTGCTCTGCGCCCTGCCCGCTTGGGCGTGCACACCTGAAGAAGCA
ACGCAGAAACGTGAAGAGCTGGCCGGGCTGGTTACTCAGTTGACCGAGCAGAACC CGCAAAGGCCAAGGAGATCAATGATGA
GCTTCAGGGGATGGATCTGGGGACGCGCAGCAAGGACTTGCCCGATAAG

94>chr1:1123070-1124475

PP0984-PP0985-PP0986

RDD domain-containing protein- cold-shock domain-contain protein- gcvT (cold-shock domain-contain protein)



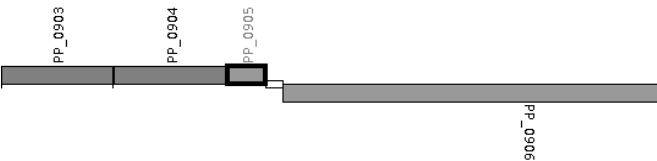
351	1	TGGCAGGGGCTTTTCA	10.12
1102	-1	TGGCCCGACACTCGCT	11.88

ATACCTGCATACCCAGCGTCTGCCCGCCGTTGGGTCCAGAACTTGGCAAAGAAGCCGAACAGGGCAAACAGCAATACCGTAGAC
AGCAATGGGTTCGCCATCCAGTGCGCCGGCTCGGTTCAGCTCGCGCATGCGTGCTTCGCCGATGATCGACATCTGAATCATCTT
GTAGGCGCCGGCGGTACGATCAGCAGTGCGGTGCACAGTAAAAAGTCATAGAACATCGCTGCCAGGCGCCGGCCAGGCCGA
CCGGTGGAAAATCCCCCTGGGGAGTGAGTAGAGGCTTGGACATGCAGGACGCTCCAAAAGACGAGCCCACTATTCTACGGGCA
AAAAAAGCCCTGCACT TGGCAGGGGCTTTTCA AAGTCTGGCGCTGGATCAGACAGGTTGAACCTTGTGAGCCTGCATGCCT
TTCTGGCCTTGGACTGCTTCGAAGGTGACTTGCTGGCCTTCTTTTACGGCTCTTGAAGCCGTTGCCTTCGATAGCGCGGAAGTG
AACGAAGAGATCCGGACCGCTTTCTGGGGTGATGAAGCCGTAACCTTTTTTCGTATTGAACCACCTTGACCGTACCCTTCTGAC
GCTCAGCCATTGTCTTATTTCCATGAAAACCTTAAATTTTGTATGACAGTTACTTTTCGCACTTTTTTGTAAAGCGAAAGATTACTG
GGCTGGGTTGCAGGAAGTAAGAGACGTCGAACGGGTTGTAGCAAATCTCGGCTACTGGCCCAGGTACGAACTGTTGCGACCC
ATGCAAAACACAGTGCACTGACTCTACGCCAACTCTCGAGCGAAAAACAAGCCCTTGGTTCGTATGGAAGAACTGGCGGTTTGCCG
ATAACCGACCGATTGTTCGGAACCGGCATGGCGCCTGGCCTGGCGCCATGTTCAAAAGTTATTGGGCAGGTTGCAAAACGAAT
ATGTCTATGCTGCCAAAACCTTCACAAAGCCGTTTCAGCCACGGTAGTAACGTGGTGTACGAAAGGCATTTTGTGCTGACTTT
CAAGGCCACCTTCTTTCCACGCACCACGGCAAACAGTGCGGTGTGAGTGCAGCATGTTCACTATCGATATAACCCATGGCGA
CAGGGGC AGCGAGTGTCTGGGCCA AAGCCCCGCTGCACACTTTACCACCGGTTTATCGTTTGCCTCGACAATGTCCGCACCT
TCACGAACAGGCGTACGCTCCTGCGGCAGCAGGCCGACACGTTTGCAGCAACACCATCGCGCACGTGGGCGAAGATCGCCTC
GGCACCCGGAAGCCGGCAGCACGTCACCGTGGCACGGCGCACCTTGGAAATTGCCACAGCAGGCTGGCTTCGATCGGCG
TAGTCTCGCTGTTTCATGTCTGTGGCCATACAGGCACAGGCCAGCTTCCAGGCGCAGCGAGTCGCGTGCGCCCAAGCCG

95>chr1:1043678-1045619

PP0903-PP0904-PP0905-PP0906

type 11 methyltransferase- lipopolysaccharide kinase- hypothetical protein- multidrug efflux protein



59	-1	CGGCGCGCCAACTGCT	7.61
230	1	GGGTACGGCCTTTGCA	12.56
273	-1	TGGCAGGTCGATGGCA	10.76

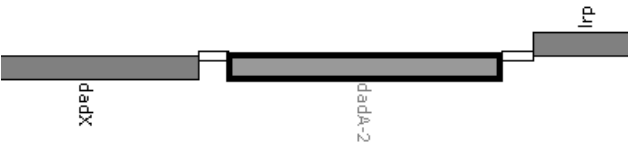
479 -1 TGGTAATTGTCCTGCT 9.26
1740 -1 TGGCACGTTGTTTACC 7.85
1770 -1 CGGTATGGTGATTGCC 7.61

CACCAGGACGGCCTGGCGCGACGCCCTTTCCACACAAGCGAGATGAGCAGTTGGCGCGCCGCGCCTTGGCATTGGCGGGCGAGCC
TGGCCTGGTACTCGACCTGCCATGCGGAGCGGGCCGTTTCTGGCCGCTGTTGGCGGAAAAGCCCAATCGGGTAATCATCGGTG
CCGACAACCTCCGAGGCCATGATCGAGACAGCCTGTGCGGCGCAACCGCCAGAAGTTGTGGCACGGGTACGGCCTTTGCAAGACT
TCTGCATTGGCCATCGACCTGGCCAATAACCGCGGTGGACAGTATTTTCTGCATGCGCCTGTTCCATCACATTGGCGAGTCGGC
GCACAGAAAGACCATTTCTTCGGAATTTCAACGGGTTAGCCGTGATAGTGTGATCCTTTCCCTGTGGGTGGATGGCAACTTCA
AGGCCTGGCGGCGGAAAAAGCTGGAGCAGCGCCGTAGCGCCAAGGCCGAGCAGGACAATTACCAAGAACCGTTTCGTGTTACT
GCCGAAACGGTCAAGAAGAATTCAGGGCCCGCGCTTCAGAATCCAGGAACGCCCTCGACTTCTGCGCTTCTATGCCATGTG
GCGGGTCTATGTATTGCGTAAGGGGTAGTGTGTTGATGGCTGTAGCCCATAAAGGGGAAGCGCAGTTTCGATTTTTACTGGCGCC
AGCAAGGCGAGTGGGTCCGAGGACCTAACAGCGCGCGCGGCGAGAGTGGCGTGCAACGCCCTCAACGATGCCGATGGCAAG
CTGTTGTATGCCAAACGCCAGGTTCGGGCATATCTACCGCAGCCTGTTGCACCCTTTTGGTTCGGCCGACCGTGTGCGTGAAC
CGATGCGCTGAACAGTTTCGAGCAGTTGGGCGTGCCTGTACCGCGCATCGTCTTCTGTGGCGCGCAGCGCGATGCCGAGCACC
AGTGGCGCGCGCTGCTGGTCAGCGAAGCGCTGGACGGTTTGTGCGAATCGACACCTGGCATGCCGAAGGTGCCGCGAGCGT
TACCCGCAAGTGGTGCATGAGCGCATGCTCAAGGACCTGGCGGACAACCTGGCGCGGATGCACCTGGGGCACTGGCAGCACGG
CTGCCTGTATGGCAAGCACGTATTCATCAAGGTAATTGGCGAAGGCGAGCAGGCCCGCGTCAAGTGGCGCTGCTGGACCTGG
AAAAGTGCAGGCGGCGTATCAGCTGCCAGCGGGCGCGCGCAATGACTTGCCTGAGCTACGCCGCCATTCTGCTGCTCAATGAC
GCGGAATGGCGGACGCTGCTCTACTTTTACAAGATGGCGTTTGGCAGCGCTGTCAAAGGGTTAGAGTAATGAAACTAGAAATT
GCTCGAGCTTTGTTCTGTTAGCTGGCCTGGCGGTGACCACCGTGGCGGTGGCTGCCCTGGGAAGAGCCGAGGCCAACCCTGTT
CAGCAAGGCTGAGATGGCAGACCAGTGCCTGTCGCGGTGCGCGGGATGCAAAACCGCAGCAGCAGGCCCGGAGCGAGCCAGACCAGG
ACCTTTTGTCTGTTCTGTTTGGCCTGCGTCAAGGTTGCGGTACAGGGATGAACCCTGCGTTAGCTGGAAGGCCAGAGGCC
TCGCGATTGCGGGGCCCTTTGGTTTTTTGGCTCTGCCCTTGGCGGCCCTTTCGCGGGCAGCCCCGCCCAAGGTTCGTTCAAGCGA
TTGCAGGTGCCTTGGCGCTCGCCTTGTGCGCCAGCAGGTTGTAGATGCACGGCAACACAAACAAGGTAAACAACGTGCCAATC
GACATCCCGGTGGCAATCACCATACCGATGTCAAACCGGCTGACCGCTCCTGCCCGCTTGGCAGAATCAGCGGCACCATGCC
GAACACCATAGCCGAGTGGTCATCAGCACCAGCGCGCAGGCGAATGGCCGCTGCTTCTCGATCGCTTCGCGCACACTCAGGC
CACGCTCATCGCTAGCTGATTGGCGAACTCG

96>chr1:6018873-6021248

PP5269-PP5270-PP5271

dadX (alanine racemase)- dadA2 (D-amino acid dehydrogenase small subunit)- lrp (leucine-responsive regulatory protein)



Inverted repeat (palindrome) GCGGGCTTGCCCGCTCCACAGG CCTGTGGGAGCGGGCAAGCCCGC

209 1 AGGCATCGGCCTTGAT 9.39
1154 1 TGGTAAACAGCTGGCA 10.06
1472 1 TGGCAGTGCAGTTGCG 10.28
1501 -1 TGGCACAGATGCTGCG 12.62

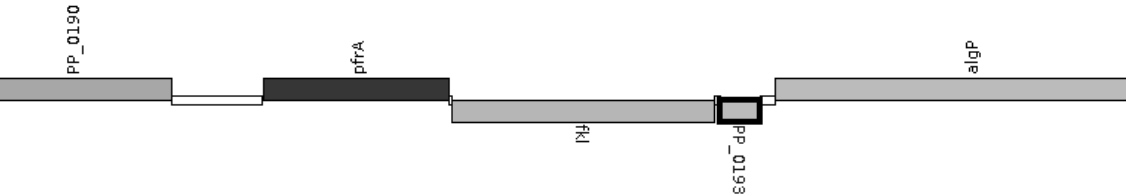
TCCAGTTGCCACAGCGAGTGCAACACGACCCACAGGTCGTGCTCGGCGATCAGCGCCAGTTCGCTGGCTTCAAAAAACCTTC
CAGCAGCAGTACCGGGGCTTTGATAACCGGCGGCGCGCAGTTCCAGCGCCTCTTCGATGCAGGCCACGGCAAAGCCGTCGGCTT
CGGCCTCGAGGGCCAGGGCGCAGCGCACGGCGCCGTGGCCGTAGGCATCGGGCAGGGCTTTGGCACCCGTC
AGTTACAGGGCCAGACGGTAGTTGTGGCGCAGGGCTGGAGTTCGATCAGGGCGCGGGCGGGACGCATAGCGGCTGCCTTATG
GTGGTTTCGGGTGAAATCGGTGGTGGATTATTCGCGGGCTTGCCCGCTCCACAGGTCGTGCACAGCTTTCAAAGCGGTGGT
GTTCTGTGGGAGCGGGCAAGCCCGCAAATGGGCCGGCACAGGCTGTTACTTGCTGGTGAGCCGGCGCGCTTTGCCCGTGCTTG
GCCACTTCCCGGCTATTGCCATAACGGGAGATATCCAGGCCCTTCGGCACTGATCTGCGGCTTCTTGCGCGCAATCAGGTCCGC
CAGCAGGCGGCGGAACCGCACGCCATGGTCCAGCCCAAGGTACCGTGACCGGTGTTTCAGGAACAGGTTGCGGAACCGGTGG
CACCACGATCGGTGTGCCGTCCGGGGTTCGCGGGCGCAAGCCGTTCCAGAAGCTGGCCTGGCTCAGGTCACCGCCGCGAGGA
TAAAGTTCGTTGACGATCATCTCCAGCGTTTCGCGCCGACGCGGTTTCAGCGACAGGTCAAACCAGCGATTTTCAGCCATGCC
CCCAACCGCGATGCGGTTGTGCGAAACGGGTGATGGCAACCTTGTAGGTCTCGTCGAGAATGGTCAAGTCGGGGCCATGTGCG
TGTTGGTGATCGGCACGGTCAGCGAATAGCCTTTTCAGCGGATACACCGGAGCCTTGATGCCAGCGGCTTGAGCATCTGTGGC
GAGTAGCTGCCAGCGCCAGCACGTAGCGGTCTGCCGTTTTCAGCTTGCCGTCGATCCACACGCCATTGATGCGGTACCCGCG
GAAGTCCAGGCGCTGGATGTCTTGGCCGAAGCGGAACCTCACGCCAGCTTCAACGCCATGTGCGCAAGCTTGGTGGTAAACA
GCTGGCAGTGTCGCCAGTCTGGTCTGTCGCGAGGCGCAGGGCGCCGGCCAGGATATCTTTACGCCCGGCCAGGGCGGGTTTCGACG
CGGGCAATGCCGTGCGGTTCGAGCAGCTCGTAGGGCACACCGGACTGTTTCAGGTACGGCAATGTCTTGGCCGCGAGCATCGAC
CTGGGCTTGGGTGCGGAACAGCTGGGTGGTGGCCAGGCTGCGGTTTTCGTAGTTGATGCCGGTTTCGGCGCGCAGCTCGTCGA
GGCAGTCAAGGCTGTACTCGGACAGGCGCACCATGCGCTCCTTGTTCACCGCGTAGCGGCCTGGCAGTGCAGTTGCGCAGCATC
TGTGCCATCCACAGGTACTGGTTCGACATCGCCCGTGAGCTTGTATGGCCAGGGGGCGGTGACGCTCCAGCAGCCACTTGATGGC
TTTGAGCGGTACGCCAGGCGCAGCCAGGGCGAGGCATAGCCGGGCGAGATCTGGCCGGCGTTGGCAAAGCTGGTTTCCATGG

CCACCGCCGGCTGGCGGTCGACCACCGTGACTTCGAAACCTTGCCGGGCCAGGTAGTAGGCACTGGCGGTTCCGATTACACCG
CTACCAAGTACCAGAACTCGCATCGTTTTATCCCTCACACGCGCGCCGCACACTTTTATTGAAATGGCATGAATGGGCGC
AGTATAGGAATTTGAGACCAGTGCAATTCACATATATAAAAGCCTATTATTGGCGAGAATTCTCGGCAAAATCGCCTTTCACGG
AGGGGCATCCCCATGAGAACCCAGCACCCAGACCAAGCGTGAACCTGGACAAGATCGACCGCAACATCCTGCGTATCCTGCAGA
ATGACGGGCGTATTTCTTACCCGAACCTGGGCGAGAAAGTTGGGCTGTCCACCACCTCCTTGTACCGAGCGGGTTCGCCGCCTT
GAGCGCGAGGGCATCATCATGGGCTACAACGCCCCGCTGAACCCGCAGCACCTCAAGGGCAGCCTGCTGGTGTTCGTGGAAT
CAGCCTGGACTACAAGTCGGGCGATACCTTCGAGGAGTTCGCCCGCGCGGTCTTGAAGCTGCCCCACGTGCTGGAATGCCACC
TGGTGTGCGGTGACTTCGACTATCTGGTTAAAGCGCGTATTTTCGAAATGGCCTCATACCGCAAGCTGCTCGGCGACATCCTG
CTGAAACTGCCGCACGTGCGCGAATCGAAGAGCTACATCGTGATGGAAGAG

97>chr1:242459-244798

PP0190-PP0191-PP0192-PP0193-PP0194

disulfide bond formation protein DsbB- pfrA (anti-RNA polymerase sigma 70 factor)- FkIB (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase) -
hypothetical protein - algP (alginate regulatory protein)



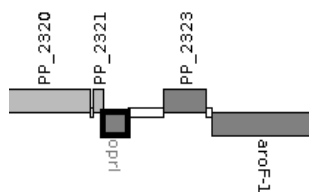
63	1	TGGCCGGCGCTTTGCT	12.32
174	1	CGGCACGGCAACTGCT	11.52
261	1	TGGCTTCCTGCTGCT	9.53
945	1	TGGCGGGTTGTTGCA	7.50
1593	1	TGGCACCAGGCTGTA	8.20
1838	-1	CGGCTCATACTATGCT	7.24
2242	1	AGGCAAGGCCCTTGAT	10.02

GCTGTCAGGCGCCGGGACGCGGGGCATCCTTCGTTATGCTCGGCTGGCGCTGGGCTGCTCGCTGGCCGGCGCTTTGCTGGCAG
CACGGCATGTCTGGTTGCAGGGGGCTGAGGGGGTCAATGAGGTATGTCCGGTGCCGATCGGGCGAGTGTTCGAACAATCCTGG
AGTGAGGCGGCACGGCAACTGCTGCTGGGTGGCCCGGATTGCCGTTTCGCTTGCCTGGAGTTTTCTCGATCTGACACTGCCGGA
ATGGAGCCTGTGTCGCTTCCTGCTGCTGGCGGTGCTGCCCTTGAGTTGCCTGCTGGCGTATCGTTTCCGCACCTTGGCAAGAA
CATGACCTGGCGCAAGGTTGTGCCATTAGCGCGACCAATGGTGATGTAACAAGGGTATTAAACACTTGTATGAACTTTGTGTGC
TGCGTACCTTGAAGGGCAGCACGCGCGGGAATAATCTCCAGCAGCATACCGGAAAAACAACCTGCTCGATGCCGTCCTGCTG
ATGTCACCTTTGTGCTGCGCGGTGCTGGTGCAGGTGCAGCGGCATCTACCCAGAAGGGAAGAGATCGCCATGCTCGATAGTT
GTCAGAACGCCCAGGAACGCTGGGGTGGGGTTCACAAGCTGATCGACCGTTGGCTGGAGGAGCGCCAGGAACCTGGTGCAGGCT
TTTCGCGCCCTGCGCGATGTGAGGCCAGCCTTCGCCGACAAGGACACCAACGGGGACTTTTGCGCCCTTCTGGTGCAGTACGT
TTCGGCGTGGCACTTCGAAGTCTGCGAGCAACTGGTTCAGCGAGGCCAAGGCGTTTCGGAGACAAGAAGGCGCTGAAACTGGCCG
AAGAGATCAACCCACGGATCAACGACAGTACTCAGATCGCACTGGCCTTCAATGACCATTGCACCAAGGGGGAGTGAAGGAC
ACCGAACGCTTTGCCGAGAAGCTGGCCAAATTTGGGCGGGTTGTTGCAATGAGCGCTTCGAGCTTGAAGACTGCCTGATCGAAGT
GCTGCACAACGCACACAAGGAAGAGGGTGCAGTGCAGGCCTGAGGTTGGCGTCACTCGCCAACCGCCAGCAGTTTCGATCTCGA
ATACCAAGGGGGTGTAGGGTGCATCAGGCTCTCCCGCCCCCTCGGCGCCATAGGCTTTCGCTGAAGGAATTACCAGGCGCCAT
TTGGCGCCGTTGTGCATTTTCGGCAAGGCGACCTGCCAGCCTTCGATAACCGAATCCAGGTTGAACCATTTGGGGGGTCTGGTT
CTGGTCAATATTGAGCCGTCCGGCAATCTGCCACATAGCGCACTTGCACCTTTGCCGCCCGCTTTTGGCTGTGCACCCGTGC
CTGCCTGCAATTCGCTGTACAGCACACCTTCCGTTAGTTTCGTGCACCCATAACGCCCACGTTTATTAGCCATGAAACGCGTT
TCGGCGGCTGCAGCTTTTGCAGCGCGGTACCTTCCTGGGCTTCATGCTGCTGCAGCACTGCCTGCATGCGTGCCTTGTG
GAGTTTCAGGGTTGCCCTGATAGGACTGCTTCAGGCTTCGACAGTGCATCCAGCTGCAAGCCTGGCATCTCCTGGCGCA
GGCGTTACCCAGGCTGGCACCAGGCTGTAAGCCAAATCGTGGTCTGCTGCTGTCGGCCAAGGCGAGGGGTGCCATCAGGCAT
AAACCCAAAAACAAGATATCGAGGCAACGCTGACTCCCAAATACCAGCAATGATTAATTCAGCAACTACACTTTCACGCAGCT
GCAAGATAACAACCTTTGCCCAGGCATGCAACGCGGCGTAAACATTACGGTCAACATGCCCTAGCGGCGGTAGCAGCAGAAGCA
TAGTATGAGCCGCAATCTCGTCAGCCAGGAGGTAAACCATGTGCGCCAAAAAGAAGCCAGTAAGTACGCCGTTACACCTGCTC
CAGCAACTTTTCGGGCGAGTTCGTCGAACACTTGGAAAGAGGCTGCTCGCAAGCGCTGGCTGATGCGGAAAAACTGCTGGCGAA
GTTGGAAGAACGAGCGTGGCAAGGCGCAGGAAAAACTGCACAACGGTTCGCTGAAACTGCAAGACGCGGCCAAGGCAGGTAAAG
CCAAGGCGCAAAGCAAGGCGCAAAAAGCCATCGGTGAACCTTGAAGAATGCTCGAGTCTCTCAAGGAACGTCAAACCCAGACG
CGCTCTTACATTCAGCAACTCAAACGCGATGCTCAGGACAGCCTCAAGCTGGCTCAGGGTGTAGGTAAAGTACGCGAAGCTGC
AGGCAAGGCCCTTGATCAACGTGCGGCCAAACCGGCAGCCAAGGCAACCGCTGCTGCCAAGCCTGCGGCCAAACAGCTGCCA
GGGCGACCGCTGCCG

98>chr1:2649734-2651544

PP2320-PP2321-PP2322-PP2323-PP2324

ErfK/YbiS/YcfS/YnhG family protein- hypothetical protein- oprI(outer membrane lipoprotein)- hypothetical protein- aroF-1(phospho-2-
dehydro-3-deoxyheptonate aldolase)



240	1	TGGTATGCCGGTAGAA	8.30
267	-1	CGGCACGGCAATTTCT	9.56
1138	1	TGGCATAGAGGATTCT	10.06
1235	-1	TGGTCAGCGCTTCGCT	7.51
1606	1	TGGCATGCATGCTGCG	12.02

GAACTGTCTGAAGATGGTGCCGGTGGGGACTCCGGTGCGCATCATCAACGAGCCTTACAAGTTCGGTATCAGCGCTGGCAAGGT
 CTATCTTGAGGCACACACGCCACTGGATGACCAGGGTAACCCGTCGGTTGTCGACAAACACACCCGAGTTATCAATGCCTTGC
 TCAAGCGCGAAGACCTGGCCAATAACCTACGCATGAACTGGGACATGGTGCGTGACGTGGTGGCTGCAGAAGA **TGGTATGCCG**
GTAGAAATTGCCGTGCCG GTGGAAAACCAGGGGGCCGCACCGATGGTGACGAGCATTCGCCCCGAACATGCAGTAAGGTAATTT
 CGGCGTACCCAGGCCTGCCCTTAGTGACAGGCCTTTTCGTACCTGCTGACCGCGTTTGCCGGTTTCAAAGGCAATAAAAAAGCC
 GACCCACAAGTGGGTTCGGCTTCTTAACAATCCGTGAGGATTATTACTTGCCGGCTGGCTTTGTCCAGCATACGCAGGGCGCGCT
 CGTTGGCTTCGTCAGCGGTCTGCTGAGCCTTCTGAGCGGCTGCCATTGCGTCGTCAGCCTTACGGTAGGCTTCGTCAGCACGA
 GCTTGAGCGCGAGCTGCTGCGTCTTCAGTCGCAGTCAGACGAGCTTCGGTTTCTTTGGATACGCTGCTGCAACCGGTAGCCAG
 AACTGCGGCCAGAGCCAGAGCAGAGAAATTTCAAGACGTTGTTTCATCGTGTTCCTTCAAGGACTTTCTATTAAATAGCCATC
 TCTCAGGAAAGAGAACTGGCCGGGTACATAGTACCCATTACTTGTAGTAAGTAACTGACAGAGCGCAAGAACTGCAAAAA
 AAATGTTGCTTGACTCCGCGCCGACAAGATTTGCGACGTGTCTGTGAAAAAAATCTGCAGGGTTTCGCAAGCGGTTGTGGTACA
 GGAACGTTTTTGTGAACTAAGGTGACTTTAACTGTCGATCAGCGTCTTAAGCCCTAGTACATCCGGTGGCTGTTGGGCGGG
 CTTGGGAAAAGTCGCTAGCGCGCGGTTTAGCCTTTTTTAACCGCCAGCACCTTGAGCAATCCCGCTTGCGGTGCCTACTATCT
 TGTCAGTGCCAGACGATCCGAACGATTACAATCGTCCAATGGTCTGAAGCGGCAACAGG **TGGCATAGAGGATTCT** GTGCCGGAT
 AAACCACCATCGGTTAAGGTAAGGGTCTGCCGAGAAGACCTGCGAGGAGTAGTGATG **AGCGAAGCGCTGACCA** TCCACCATGA
 CCAGGCCGGTCATCAGTTTCGAGACCAACGTGGACGGTCATCGTGCCCTACTTGACGTACATGGATCTGGGCAAGCAGACGCTGG
 ACATCTATCGCACCTTCGTGCCAACGCCCTGCGCGGCGGCTGGGATCGCTGCCGCCCTGACCGAGCGGGCTCTGGAGTACGCC
 GAGCAGATGGGGTACACGGTGATCCCGTCTTGCTCATATGTGGAGCGTTACATGGAGCGCCAGCAGCGGCATTTCGAGCAAGGC
 CTGAGCTGACGACAGGCACCAGACACAACAAAAACGCCGGGCAGTGCCCGGCGTTTTTTCATTCCCGCAATGT **TCAGCCGCGC**
TTACGCTGCGGCAGCACATCCTTGAGCT **TGGCATGCATGCTGCG** CAGGGTTTTCTCGGTAGCCGACCAGTCGATGCAGGCGTC
 CGTGATCGACACGCCATACTGCAAATCGTCCAGGTTTTTCGGAATGGACTGACAGCCCCAGTTTCAGGTGGCTTTTCGACCATCA
 GGCCGATGATCGACTGGTTGCCCTTCGAGAATCTGGTTGGCGACGTTCTCCATCACCAGCGGTTGCAG

99>chr1:2387992-2389302

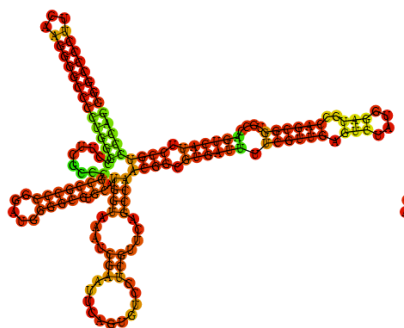
PP2095-pequeño RNA-PP2096

pyrD (dihydroorotate dehydrogenase 2)- rlmL (23S rRNA m(2)G2445 methyltransferase)



Rho-independent transcription terminator (cad-)GGGCCCCCTGAAGGGGCC → GGGCCCCCTCAAGGGGCC

OJO! Intergénica grande con terminador antisentido!! Small RNA con muy buena pinta con un rho-independent terminator y regulado por sigma 54!!!



<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAfold.cgi>

498	-1	TGGCGTGAAGGTCGCG	7.65
-----	----	------------------	------

TGTCGAAGCATTGCCGTACGGTGGCGAGGCGGGCGGCCGTGTCGGGCGCACCGGTGCTGGAGAAGAGCACCCATATCGTCAAGG
 TGCTGGCAGGTGAGCTGGGCGGCAAGTTGCCGATCATTGCCGCCGGGGGCATTACCGAAGGCCGCCATGCTGCCGAGAAGATC
 GCGGCCGGGGCGAGCCTGGTGAGATATACTCGGGCTTCATCTACAAAGGGCCGGCGCTGATTTCGCGAAGCGGTGGATGCTAT

CGCGGCAATGCCCGGGTGA CCAGCCCGCCCCTGTGGGGGGGCGGGTGGGTGCAGCTGATGAGGTTTGCCAAGGCATAAAAAAG
GGCCCTTCAAGGGGCCCCTGGGCCTTCGCCCCCGCCCGGATGGGGCGTGCATGGTAAATCGAATTCAGTGTCTCGTTTCAG
CCAACGGCGTGATTTTCGTTGAGTCTATGGATGCCAGCGGTGCCAGTCATTCCGTCCCAGTTATCAC CGCGACCTTCACGCCA
GCCGTTGATCCAGGCTTGCCGAACAGAAGGAAGATTGAAGGGGCAAAGTTCGCGGGATTGCGCGGTGACCCCGTATTGGTAGC
CACGTGAATATGCTCTTTCCAACGGATCACGCTTAAAGTCTTCTCATAGGG TGTTCG CCTCACTTGTTGACTGTAATGTCCCGT
CGGCCTCTCCGAGGCCGGGCAGAGTCGTTCTGCCGTTTGCCTCGCTGCCGGCGTGGCGAGCTGAAAGTGCCGCCTCGTTGC
GAAGCGGCCTGAGACCAGTTCTATCGAATGCGAGTCACGGTGTGAATGACCGATTGTGCATAAGCACGTAACCTTTCCAAGGG
TGAGGGGATAAGTAAATAAATGCGACTCAACCTTGTGTTGGTGTGTTAGCCCTGCAATGATCGGGGTTTGGCGATCTTTGACGTC
ATTTTCGCCAGGGTGTGTTGCCGATGACAGAAATAATTTGAAATGCGACGAAGGGTCACATTGGCCCGGAGATCGCCAGAATTA
TGCGTACTGCCTGATGATCTAAGCTGTCTTGGCACTGGGCCAGGCACGGATCGGTGAGCGGGCCCGGCTTTTCTGCAGCACG
TTGTGTGTCGAGAAGGCCACCCGCACGCCTGCTGGAAAGGTGTACGGGCAAACATCGCGGGGCGATGCGTCGCCCCGTCACT
CAAATAGCCCAAGGCGCTGGAATACTCATGTGCGACCGTTTTCGAACCTTACCTCACCTGTCCCAAAGGCCTTGAAAGCCTGCT
CGCCGAAGAGGCCAAGGGCTTCGGCTTGACGAGGTGCGCGAGCACACCTCGGCCATTTCGCGGCG

100>chr1:5139848-5141123

PP4524-PP4525

Na+/solute symporter- LysR family transcriptional regulator



Rho-independent transcription terminator GCGCGCTGCACCCACTCGGGTGAAGCGGCC

191	1	TGGCTTATAACCTGCT	10.87
206	1	TGGTCGGCGCATGCT	7.09
1011	-1	TGGCCAGTCGATGCT	12.60

GCGGCCATGATGTCCACCGCCAGCGCCGGTCTGCTGGCTGCCTCGACCACCGTGACCGAAGACCTGCTGCCAAGCTGCGTGG
CGGCAAGCAGTCGAGCCTGGGTACCAGCCGCCTGTTACCCCTGCTCACCGGCCCTGGTGGTGCCTGGGCATCGCGCTGATGGTGA
ATGATGTGATCAACGCCCTGACCC TGGCTTATAACCTGCTGGTCGGCGGCATGCT GATCCCGCTGATCGGGGCGATCTTCTGG
AAGCGTGCAGCACTGCAGGCGCGATTGCCAGCATGTCGCTGGGCTTTGCCACCGCCCTGCTGTTTCATGTTCTTGGACGGGCT
GGAGGCCAATACGCCGATCTACTACAGCCTGGCAGTAGGGCTGGTGAGCTTTGTGGGCGTGAGCCTGGTGTGCGCAAGTCAG
TGGCGGCGGTGAAGCTGGCCTGA CTGCTGTACCAGGCCCTTTTCGCTTGTAGGAGCGGGCTTGCCCGCAAAGGGCTGGTACAGG
CAATAGAAATCAGCAGACACAAAAAGGCCGCTGCACCCACTCGGGTGAAGCGGCCCTTTGTGCTTAATCAGCGCCGACGCGGTT
GACGTTTGCCTGCTCTTCATCAGTCGGGATCGGCACCGGCTGCAAGGGTGGTGGGATCAGCCCCAAGGCGACAGCCAGGTCA
TGGAGCCAGTTTGACAGTGGTTTATTCATAATGCCCCCTTGACGGGTGAGCCTCACGGCAAATCAATCCTGCGATGTTTCATA
CAGATCATAGCCCGATGTCTGTATTACGCATTCCTCTGTTCTTACAGATAAGGGCGATTTTGACTCGGATCAAGCCGTGGCA
GCGCATTCGACGACTGGTTAATCGTTTCGCTTTGTTGCAGGTCGATCCATGCCTGCAGATTAGCCCCGCGCATACCTTGGCG
CCACATCAGCCAGGTGACCGCCTGATCGAAAGGTGCCTGCAGCGAGTGCACCCCTACCCGATCACGCCAGGCAGGCTGTGCA
GCATCGACTGGGCCA TCATCGCCACACCCGCAACCCGCGATCACACAGGCCAGCATGCTCTGGTACGACTCGATCTCCATCACC
CGCCCCATTGGCGTATGGGCATGGGCATACAGGCCCTCCAGACGCATGCGGTACGAGCAGCCCTGGCGGAAGGTGAACACCGC
CTTGCCCGCCACGTCTTGGCGGTGAGTACCGCCGGGTGCTCGGGGCTGGTGATCAGTACCAGTTGCTCATCGCACAGCGGCA
CGCCATCCAGCCCGCAAGGCTCGGTGGCC

101>chr1:6039607-6041335

PP5291-PP5292-PP5293-PP5294

pyrE (orotate phosphoribosyltransferase)- crc (exodeoxyribonuclease III)- hypothetical protein - rph (ribonuclease PH)



Rho-independent transcription terminator CCATTGGGGCTGCATTGCAGCCCCAATGG

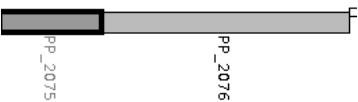
406	1	TGGCATTGAGCTGCG	9.75
-----	---	-----------------	------

TTGCGGTTGAAGCACCATGGCACGTCCAGCTGATGCTGGTTCGGCAAGGGCCACGGCGGTAGTCGCCGCCAAAGGGATACCCCTT
GTAGGCCGGGCGCAACAGCACATCGAACGGGATCTTGCTATCGACGATGGCGGCGGCGTAGCAACGCCCCAGCTCAGCCAGTG
CGGAGCCGGTGTGAAACAAGCCGGCATTGAAGAAATACGGGCTGGTACGCCCCGATTTTCAGGGTGAATTCACCGAAACGCAGT
ACCCCGGATCGATGGCAAAACGGATAAAGTCGCGCTGATACGGCTGCATGAATAGTCCCGGACACCACGGATTTAGCTAAAT
GGGTTGAGCTCGGGTATCATACACGCACGAGATTTATGGGGCCATTTATGCGGATCATCAGTGTGAACGTAAAT TGGCATTGAG

GCTGCGGCCGAGCGTGGTTTGTCTAGCTGGCTGCAAGCCCAGAATGCCGACGTCTGCCTTCAGGATACCCGCGCCTCGGCCTTTGAACCTCGACGACCCAGCTTTCCAGCTCGATGGCTATTTCCCTTTATGCCCTGCGACGCGGAGGTGCCTGCCCAAGGTGGTG TGGCCCTTTACTCGCGCATGCAGCCCAAGGCAGTCTACCCGGCCTGGGCTTCGAGACAGCCGACCGCTACGGGCGTTACCTG CAAGCAGATTTTCGACAAAGTCAGTATTGCCAGCCTGCTGCTGCCCTTCGGGCATGAACGGCGACGAAGACTTGAATCAGAAATT CAAGTTGATGGACGACTTCGCCAAAGTACCTGGACAAGCAGCGTCGCAAGCGTCGCGAATACATCTATTGCGGCTCGTTCTACG TGGCGCAGCAGAAGCTCGACATCAAGAATTGGCGTGACAGCCAGCAGTCGCCGGGCTTCCTGGCGCCAGAACGCGCCTGGATG GATGCGATCACTGGCGAGATGGGGTATGTCGATGCCCTTGCGCGAAGTCAGCCGTGAAGGCGACCAGTACAGCTGGTGGCCGGA CAACGAGCAGGCCGAGATGCTCAACCTGGGGTATCGGTTGACTACCAGATCCTCACCCTGGGCGCTGCGCCGCTTCGTGCGCA ACGCTCGCCTGCCGCTCAGCCACGCTTCTCCAGCATGCACCGCTGATCGTCGACTATGACTGGACGCTGACCATCTAAAAG GCCATTGGGGCTGCATTGCAGCCCCAATGGTTATTTGATCGGCCGCCAGATCATCGGGTAGCGATAAGGCTTGCCCTCATTG CCGCACCGCCGCGATGATGATCAATATCATCACTGCCACCGTGAGCATGGCAAACAGCACCAGCCCCGATAAACACGAACATC AGCAGGAAGCAGATGAACCCGCAATGGTCACGCTGATCTGAAAGTTCAGCGCCTCTTTGCCCTGGGCGTCGATAAAAGGGTC TTGCTCGCGCTTGAGGTGCCATAGCACCAGCGGGCCCAGCAGGTGCCAAGCGGCAC'TACCAGGCCAACAGCGCGGAGAGGT GGCAGAACATCGCCCATTTGCCGGATTTCGGCATTGGGCGGGGTGATCGACAGGTTTCAATCGCTCATGCCCCGCACCTCCTTG GCCGGTTTTCAGTCAGCCAGTGCTGCCGTGCTGCAGCTCGAAAATCTCGTTTCATGCCCTTCTGCGCCAAAGCGAGCATGGCGTTG AAATCTTCCGGCTGGAACGGTGCGCCTTCGGCAGTACCCTGCAC'TTCGATGAAACCACCAGCGCTGGT

102>chr1:2360281-2361862

PP2075-PP2076
hypothetical protein- hypothetical protein



223	-1	TGGAAATGGCCCTGCT	8.46
254	-1	TGGCACCCAGCCGCA	9.03
1020	-1	TGGTCCTCACATTGAT	8.50
1082	-1	CGGAACGCAGGCTGCT	8.86
1193	-1	AGGAACGGCCGTTGCG	9.85

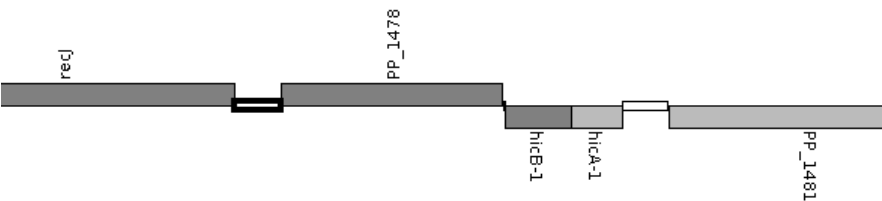
ACAAACAGCAGTGCAACTTTGAACAGCCAGCTGCTTTTTCGGAAGAAACGCCCAAGGCCTTCGAAC'TGGGCGCTGAATGCTTG GATGGGTGAGGGTAGCTGGGTGCTCAGGCGGGGGCGGGGGACGGCGTGTGGGCTTCTTCCATATAACGACGGATGAATTCCC ACTCATCACGCAGTTTCGCTGCCGCTTGGCCTTGTTTGCC'AGCAGGGCCATTTCCA'TGTGAGGCAGGCCGGTGC'GGCTGGGG TGCCA'GACCAGGCCGAGCCGCTGCCACGCTGAGTGAGTCACTTCTGCGTTCGATGGCTGTGCTTCCGTTGTTTTCCACGG GAAAGTGACGATGCCGCCGAGTATTTTCGTCGATGTAGGTGAAC'TTGTGGGTACTCGATTGAATCGAATGAGCAAGTGAC GGCTAGTCAGCATTTCTAGTCGGGTAAAGTGATTCCATACTTTGAATAAAGATACACTAAGGCCGAGCTGACTGAGAGCATT ATAATTGTTGAAAGAATAGTGATTACGAGCGCCCCCAGGATCGGTGATGTCCATCCATAAAAATCCAGTGCTGATCATTAG TCCCAGCAATGGCCGGGGCGACAGCGCCGAGCGTTGCGAGCGTAATAAGCCCCACGCTTCTTCTGAGCCTCCGACGCGCA TTTCTAAAACAGTTTCGCTGAATGCGAAAATAGGTTCTCTTGCATAGGGTTGTTTACTAACGGATTGGAAGTGGAATTTCTTCA CTCAGGTACCCCTCATACAAATCTTTACGCTTTTTCGCTCGGTGTCAGTTCTGCTTCATATGATTTTCTCGCGGCTTCGGATT CAGTAGCCATTTTCCAAAAAACCCATTTCGATCAGATACATCACAATACCTCGCTGAATGCGGAGTGAGGGTCTTCAGCTCTTC TTGTTCTTCAAACGGTCTTGAGTTTTCGCAAAGCGAAAGCTGCTGCGTTTGCACCACTTTTCCAAAGCGTCGTCTTCAAATA TGTAATAATCAATGTGAGGACCA'AGCCAATCCAGAACGCCCAAGAACGAGGCGGGTAAGTAATAACCG'AGCAGCCTGCGTT CCG'AGCTTTTTTGAAGTGCTCCCAATGAGGTGGATAGCATCCTGACGAGCTTGGTCTTGGCATTTTGAAGAGGTAGTCGAA AAAAGGTTTTGTCAGT'CGCAACGGCCGTTCCCT'AACTCAGCAAGTGAGAGAGTCACTGTAGCGACCCCTCTTACAAAATAAGTAG CCGCAAGAGTCTGGAGTTTTCGAACTGCTTGGTAGCGCCACTCTGGCTGCTTTTGTAAATGCTCAATCGAGTCAGTGAAA TCCCACCACGCGAGTACCAACCCCCCGGTGCCAGCTAAACTGGCGCCCCATAGTTTCAAACGCCCTAGAGCGGCCGCTGCTCC TCGTCCGGTCACACTGTTTCGCGCCGTACCAGCGCACCACCTGGTCCACATAACTGGCTCCAAC'TTCGAAGCCCGCCGAGCCG TAGTCATCGCGGCCGCCAGGAGTTCGGTCTTACCCGCGCATCACTGTCAGGCAGTTCGCGCGCTTTGAAGGCCATCAGCATC CCT

103>chr1:1683125-1685580

PP1477-PP1478-PP1479-PP1480-PP1481

single-stranded-DNA-specific exonuclease RecJ- NADH flavin oxidoreductase- hicB protein- hicA protein- gamma-aminobutyraldehyde dehydrogenase

¿HicA of Escherichia coli Defines a Novel Family of Translation-Independent mRNA Interferases in Bacteria and Archaea



Rho-independent terminator (cad-) TCGAGCGCCGCGCGGGCGGCGCTCGA →TCGAGCGCCGCCGCGCGGCTCGA

390	1	TGGCCAACGATTGGCA	8.36
620	-1	AGGTACTGGCCTTGCG	8.39
1038	1	TGGCTCGTCGCCTGCG	8.04
1189	1	CGGCATGATCACTGAA	7.45
1257	1	TGGCTCGGAGCTGCT	11.36
2388	-1	TGGCGGCGCGCTTGCA	9.16

TGAACGAGTTTCGCGGTAATGAGAGTGTGCAGTTGATGATTGCGCATATGGAGCCGCGCTGAGTTTAGCGTCAGGTGCCTGCC
TTGGATCTTGCGCTGGGGCACAAATCGAGCGCCGCGCGCGCTCGATCTCACAGGCGCTGCAAACCTTTCGGCGAACCC
CTCGCCATCCCACAGAACCTCCCCCACCAATCTGGTCTAGTCTCATTAATGACCGGCACCGGGCCAGGGATGTGCACTTGAG
TGTCCGGGCCGGATCACCATTTGGAGTCCTTGGGAGGTGCCCTCATGAGCCTGCTGCTCGAGCCTTACACCCTGCGTCAGCTGA
CGCTGCCCCAACCGCATCGCGGTCTCGCCGATGTGCCAGTATTCCGCCATCGATGGCC

TGGCCAACGATTGGCA

TCTCGTTCAC
TTGGGCTGCCCGCCGTGGGTGGCGCTGGCCTGGTCATCAGCGAAGCCGTTGCGGTGACTGCCGATGGTTCGCATCACCGCCGA
AGACCTAGGCTTGTGGAACGACGACCAGATCGTCCCGTTGCAGCGCATCACCCGTTTCATTACTGCGCAAGGCGCCGTGCCGG
GTATCCAGTTGGCCACGCCGGCGCAAGGCCAGTACCTATCGGCCCTGGCTGGGCAAGCAGGGCAGCGTGAAGCTCGAAGAC
GGCGGTGGCAGCCCGTGGGGCCGTGCAAAATCGCCTTCGACCCGCAGCACACACCGCCACGCGAGTTGAGCAAGGACGAAAT
CCAGGACGTGATCGACGCCTTCGTCGCATCGACCGAGCGGGCGCTCAAGGCCGGCTTCAAGGTGGTCGAGATCCACGCTGCCC
ATGGTTATCTGCTGCACCAGTTTCTCTCACCGCTGAGCAACCAGCGCCGTGACGAATACGGCAGTTGCTTCGAGAATCGAATC
CGCTGACCTGCAGGTGGTGGAGGCCGTGCGCAAGGTCTGGCCGGCCGAATTGCCGCTGTTCTGTCGGGTATCGGCGACTGA
CTGGGTTCGAGGACGGCTGGAACCCGGATGAAACCGTCGAAC

TGGCTCGTCGCCTGCG

GGTGTCTGGGTGTGACCTGATCGATG
TGTCTCCGGTGGTACCTCGGTCAACGCCGAAATTCCTACAGGCCCTGGCTATCAGACGCGCTTTCGAGAGCGCGTGCGCAAG
GAAGCAGAGATCGCCACCGGCACCGCTCGGCATGATCACTGAA

CCTGCCCAGGCCGAGCACATTCTGCGTACCGGGCAGGCCGA
CGTGATCTTCC

TGGCTCGGGAGCTGCT

GCGCGATCCTTACTGGCCGCTGCATGCCGATGATGATCTGGGTGGCAACAAGGCCA
CTTGGCCGGCGCAGTACCAAAGGGCGACCAGCCGCGCCAATCCGATACATGAGTCGGACTTGCGGGATTAAGCTACTGCATTC
AGCTGAATGCGGCCTGGCTGAGGATGTCACTTACCCATTGGTTAATGCTCTTTTCCGCCAGTTCGGCTTTAGCAGCCACGCTG
GCGTGAAGAGCAGGTTCAAGACGCAGGCTCAGCTTTCCCGAGTAAGCTTTCTGAGGTTCCCTTCCGAGTTTTTCGCAAGTCTC
GATGTAGTCATCGACAGCTTCTTCGAATGCTCGACGGAGCTCACTGATTGATTACCGTGAAAGCCGATCACGTCACGGATGC
CGGCAACATGACCGATCAGTAAC

TGGTCTTTCATCTGCTGCGGATAGCCGCGGTAGGTCATTACATT

CATG

TGTTAC

TCCTGCCTGTTCCAGGAAC

TGGCGCGCGCTCCGTACCTGATAGGATTTGGCATCCCTTGTTCGGGATGCGGTTCGATGG
TACGTGGCAATGGTCCCATTAAGCTCGAAGCGCACCCGCGATCCACGGCCTTCGATCGCCTTGGCGCCTATCGATATCAGAAA
TGACTCCAAACGCGGCCACTCCAGCGACTTTTGAACCGGCTTTTTGAAAATGGCTTCAAAGGTCGATCTTTGATGATTATTCA
TGGTATCAGAATATGATACCAGCTGATTGTTGGTATGTAGGATGGGCGGAGCCCTATCTGTAGGAGTGGTCTTGCGAGCTAGG
GGTGTCTGGGCGTCGACGTTAGCCGTGCATGGCGGTAGTCTGTTGTGTGGCGAAAATCGAGCGCCGCCAGCGCGGCGCATCGC
GAGCTGCACGTACGATGCTCGATCTCACAGGCGCTAAACCCCTATAGCCCTACACCACCGGCCCCCTCAATGCTTGATCATCA
CATGCCGCACACAGGTGTAGTTCCTCCAGCCCATACATCGACATGTCCTTGCCATACCCCGAATGCTTCTGCCCGCCATGGGGC
ATTTTCGCTGACCAGCATGAAGTGGGTATTCACCCAGGTGCAGCCATACTGCAAGCGCGCGGCCA

GGCGGTGGGCGCGGCCGT
GTCGCGGTTCATACCGATGAGGCCAGGCCGTAGTTGGAGTCGTTGGC

**** 104>chr1:3201696-3203488**

PP2808-PP2809-PP2810 (Antonio) 2 cajas perfectas Rocio Barroso. Regulado por CbrB
Oxidoreductase- hypothetical protein- hypothetical



Rho-independent transcription terminator CCGCCCCTAGGGGCGG

152	1	CGGCAAGCTGTTTGCC	7.50
168	-1	GGGCAAAACAGCTTGCC	7.06
184	-1	TGGCCGTTGATTGCT	10.05
977	-1	AGGCACAGCTCATGAA	8.99
1417	1	TGGCATGTGGCTTGCG	15.61
1424	1	TGGCTTGCCTGTTGAT	11.09

CATTGCAAGGCCTTGCGGTCAAGCACTGCTGGAGTGGTTACGTCACTGGCGCCTACGACTTTCTGCCGGTGATCGGTGCCATG
GGCGCGAAACAGAACATTTACTACGCCACCGGCTGCTCGGGCCACGGGCTGGGCACGCAATCGTTGAT

CGGCAAGCTGTTTGC

CGAGCAAAATCAACGGCCA

GGCGCCTGAGCTGCTGGCAGCACTGCAACACAAAACGCCGTCCTTGCTGCCTGAACCCCTTGCAAT
GGTGCGCCGTACACGCTGCCTTTGCGGCGGCCAAGTTGCTGGATGACTGGACC

GATAGAAAAGTGCGTAAAGACAAGGCCAGG
AAGGGCTGATTGCAATTGATGTGCGTGTCTATGCCCGTATGTGCAGAACTACGGCGCGACCCTTTTGACAGAGGCTGTTATC
GTGGA

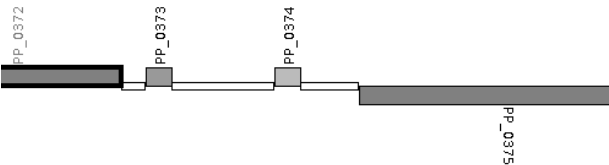
ACTCATAGATTTGTTTGGCGTTGATCGCATGCGTGCTGCTGGTGATGAGTGGCTTGGGTTATGGTGTTCATTTATCAG
GCGCAAGAATTATTTGTTGGGCGTGGAGTTCTTGATTGTCTGGTATTTCCGCAACAAACTTTACGACGTTTCATCGCCACGGGGT
GGCAAGCCAATTATAAAGTCGCCATCTTTCTGGATGCGTTTTTCCGCGGGGTTCGGCGTGCCGGTTATTGCAACGCTCGGGTTG
ATGGCCGTGACGCATAATTATAAGCCGTCGCCGGTGAAGGACGTGATATTGTTTTTGGCCGCGTTTGCCGCGACTGCCCTTTA
CTACCTGTGACGAGCTTTAAAGAGTTGCTGCCCTATTTCTATGTGTTGATGTGGTCTGTTGTACACGTTGTTTCTGGTCTACT

TTATCTGGCGGCTGGTACGTGCCGGCGAGTCGCTGCACGCGCTGGCCACCTTGCTGGGAGGGGCGGCGGGGCTGACGATCGCG
CTGCGGTATGACTTCTTCCCAGATCCCGGGGATGATACCAAGATGATCTTCATGAGCTGTGGCTTCCTGACCTGGTCCTATTC
GATTGTGCAGTTGTTTTATGCTATGGGGCACTTCAGCGCTCAAGGAAATTGCCCTCGCATGCCATGCTTCATCCAGTTAAG
TTGCGGGTTGGTTAACGGGCTGTTCAATGGCAGACGGGATGTGTAGTTTGTATATCTGCCTGTTACATCCATGGCGGGCGAAAGCC
TGCTTTTTTACCGCCCTAGGGGCGGTTTTTTTATGGGTGAATCATTTCGCGTCAGTCATGGGCCTGGATAAGCGAAAAATAGT
TAGGGTTCAGTGTGGCAGTGGTAGACCTTTAGTGGCGCACTATTAAAGGCATCTTTTGCTAACATGTTTCCTTACTTCC
CAATAATGTGCAGGCGCAGGCACGCATTAGTCGATAAAATAAATTCAACTCGCTGATTTCTAGCGTAATCCGCCTATGACG
CATTCTGGCATGTGGCTTGCGTGTGATCACATGACATGGTCAGTTGATCATGTGCTTGATCAGGATGTAGTAGGCGCCGAT
CTTTCCACCCGAAGGGTCGAGCAGCCGGTCCAAGCCCTTCGTTTGAGGATCCTCCAATGAAACAAGTCACTGCACGGTCGGAA
AGTGTCGTATCCGCCCCCGGTATTTTCAGGCAGCTGCTGGTTACCTTGCGGCCCTCGACCGCGATCTGTTTCGGTACAGGCTGC
GCCCCAGGGGGCGGAGGCGCTGGGTTTGAAGTTGACGCCGCTGGGGGGCGAGAGCGCCGCGCAGTTCTAGCGCGCATATTCCAG
CCTGGGCACAGCCAGGCAGCAGGGGCGAGGATGGAGTTACGGCCAGGT

105>chr1:453341-455194

PP0372-PP0373-PP0374-PP0375

class III aminotransferase- hypothetical protein - hypothetical protein - poly(oligo)peptidase



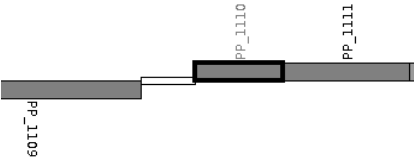
207	-1	TGGCAGAAGAATGGCG	7.70
1521	-1	TGGCTGTTCTTTTGCA	8.86
1532	-1	TGGAACAGGAGTGGCT	11.98

CGTCGCGAAATGCCGGCGTAGCGGCCTGGCAAAGAATTCAACGAACCGTCTGGCGTTCCTGCGCATCGCCCCCTGGCCTGTTTC
ATTTCGCCCCGGGGCGTTTTTTTTTGCCTGTGGAACCTCTACGGCTGGGAGCTAGTCTTTGATGTAACCTTCAGGAGAGACTC
GCATGGACTTTATTCGCATCATCATCGCCATTCTTCTGCCACCGCTGGGCGTGTTCCTGTCAGGTGGGGTTTTGGCGGGGCGTTT
TGGCTTAATATCCTGCTGACCTTGCTGGGGTACATTCCGGGGATCGTGCATGCGGTGTATATCATCGCCAAGCGGTGAGGTGC
CGGGGGGGGAAGACATCCAGTCTCCCACCCCGCAACAGCCCTCAGTTTTCGAAGCTCGCTATGCAATGCGTTTTTACCATGAG
TTTGTGCGACGTAGTGTTCAGCGCGTTCAGTGGGAACCCGGTATTGTAACGCCCCATTTCAAGTAATGCCGGGCAGGGGAGA
ACGTCTGGCATAACGAGGGTAAAAGGATCCCTTTTCATCGGGTTCCCTAGGCTTTCCCTTCCCGGTGCGCTGTGAATTTCTGGGGG
GCATTATCCAGAAAGAGTTGAACAGTACCGATATCTTGGTCACTGGAGAGCAGAACCCGAATCCGGATGTGCTACCACTTGTG
CGCTTCAATTCGCGTCCACCAGACCACCTTGTGTTTTTACCATCGAGCCGGGTGTGTAGTGCCTCATTTCAAACCGGCCGG
CCTGCACCTTCATGAAGAAAGGTTAGACATTGCTGCCCTCGGACTTCCACTGAAAGATCACATAGTCGCCATACGGGTGCTTG
TCGACTTCAGGGAATTTGCTGCTCCAGCAAAAGTCGTAAATCTGGTTTTTCCCTTCCAGCCTTCATAGACTTCGTAGGGTGCAC
ATTAACCTTTGATGGAGTTTGACTCGCACCGGTAATTACTCGTGTGCGCAGGCTTATCAAACAACAGACTTTGCCTCGTTCCG
TATCTCGCACCACCTTGAGGCTCGCACCCGTTTTCCGGCCCGCTGTTTTCTACCATTCTGAAGAGCTCATGGGTGGCTTTCTGT
TCATCTTCTGTTGCGGTTCGAGGGGTGTGGTTGACCCGACCCACATCAGAAAGTTTTTCAGGGGCATTGGGTGGGCAGCTCTC
CTCGTCATCATCTGGCAGGTTTTTCCCAAGGATTGCACCTCTGAGTTTTATCCGGCGATAACCATTGAAGTAATAGCGCCATA
CCCGCATGACGAAATGCGTATGGCCATTTTGTGATCTTTGATTGGTGCTCCGTGCGCGTCTTTTTTTCATCATGGCGGCCCAT
TGTCATTTTACAATAGCCGCCGCCCTGATAGCGCATCCATACAGGTTCAAGGGCGGCGCAATACCGCGACGTTAGGGCCAGA
ACCAAGACACGTCTACTGACAGAATTGCCAGGTAATTGTGGTTTTTCCGAATGCAAAGCACACTTAGTTTTTTATTGTGTTGATG
GTTGATCACGTTCGAAAAAGAACAGCCACTCCTGTTTCCAAGCGCATGCGCCAGGTTATTTGCCTGTGCGAAACCGTGCCGTTTCA
GAGCATAGAAATGCGCCTCTGCTTGAACACCCCTTGCCCTTGAGCGCTGCGAGCATTTTTTCGGGTCTGCTCCGGTACCACTACA
GCATCCAGTTCACCTTGAAAAAATCACTGGCGCCCTGATGCTATCTGCATGCAGAAGAGGGGTGCGCTGGCGATAGCGTTT
AGCGTCGCGCTGCGGGTCGCCGATCAGCCAGTCCAGGTAATCCCTTTCGAACCTTGTGCGTGGCACGGCCAGGGCTATCGGGT
CGCTGACCCCGTACAGGCTGGCGCCGG

106>chr1:1269079-1270931

PP1109-PP1110-PP1111

GntR family transcriptional regulator- serine O-acetyltransferase- synthetase



No promoters found scoring over 7

GCCTTGGCCAGCAGTTCGGTGTGCGGCCACGCTGGGGGCGAGCCAGCCGCTGCCAGCTTGGTGAAGTGTGCGGCCCTGACG
CAGCCGGAACAGCGGGTCGCCGGCCATGCATTTCGGTTTCGTGAATCACGCTGGTTTGCCGGGCGCGGTTTTGCCACGAAGTAGC
CTCGCCCGGGTGATGCCGTCAACACACCTTCGCTGACCAGCTGGGCGTAGGCCGACACGACGTCGTGGTAAGTGAAGTCCACT
GCAGCGGTCAGCTTGCGGATGGAGGGCATGCGTTGCCCGGGCAACCACTCGCCTGCATCCAGGCGTTGTTTTCAAAGGTGATG

AAGGCTGCAGGGGATCATGGCAGGTCCGAAACCGTTAGAAAAAAGCCTAACAGTTAACGGAAATGCTTGTGCGACTGTTTCGT
TTGCAAATGGCCAGCACATGCCAATATCCCTGTGTGCGAACTTTTCGGCTGCCAACAAAGGCGGCACCTTTTAGCGTCTGTGCAG
ACCAGACAACCTGGATATCAAGCCCATGCACCCAATGGACATGCAATCAGCCGTTCATTGCCAGGCTTCCTGTCCCTGACGAACT
GGAGTCATTCAAAGTTGTAAGAAATCTTGTGACCTCGGCTTTTATTGGAGTGTGTGTTCAATCGTCGAGTTCGAAGCACTGAAAG
AAACACCGATCATAGAAACTGTGACTGAACAGGCACATGCCGATTTACAGGCATTTGCCATGAAAGATCCGGCTGCCGGCCGC
GACCTGGTATTTCATTGCAAAAACTACACCTCTTATTCTGCGGTTTTTGCAATTATCGGCTTGCCATTGGATTTACAACAATAG
CGCCGCGACCTACGGCGCCGGCGGTCAATGCCCTGGCCGCCATGATCTCCAGGCGCGGAAAAATGCTTTTCGGGGCGGAGATCC
ATTTCCGCGAGCCGATTGGTGC GCGCTTCATCATCGATCACGGCATGGGCACCGTCATTGGTGAACGTCGACCATTGGTGAC
GATTGCTACGTGCTTGGCGGCGTAACCTTGGGCGCCCGCGGTATCAGTGACAACCCCTCGAGCCCCAGGCATCCGACGTTGGG
TAACCGGGTGCAGATCGGCGCTTTTCGCCAGTGTGCTGGGCGCAATTCATGTGCGGTGACGGTGCCTTTATCGGGCCGGGCTGCA
TTCGTTACCAAAGACGTCCCGGCCGCTGCCCGGTACAGGTTAAACATCATTGCAGGTGGTATTGGAATCATGAACGCTCTGA
ACTACGAAGTTTTTAAGAAATACCGAGAACTGTATTACAAAGACCAGTATTTGGCGGGCGCGAATACGCAAGTAGCGCGGGTG
CACAGTGACGGCATCGAGTTGCTGAGTACGGTGGCCTATCCAGAAGGGGGCGGCCAGGAAGCGGACTTCGGCACCATTTGAATT
ACCGGTGGGTACCGTGC GATTCTGTCTGGGTAAAAAACTCTACGGTAGCCCTATTCGCCTGGAAGTTTTCAAAGGTGGA
TGGGCGGCATCATTTATTCACAGCCTGCACCCCTGATGATTTGCACCTTGCTGGATGAAGTCACCGTAGGCATGCCGGCCCGCGTC
ACTATCGATATCGAACGGCGCGAACGGCTGACGTTGTCTCACAGTGCCAGCCACTTCCTGTATGCCGCCGCCATCGGGCTGCG
TGAAGAATTGAAGCAATGGACTATCGGCTGCCATATCAAGGAGGACACGGCACGTTTCGACTTCCTGGTCGAGGACGCGTTCA
CGGCTGAAGACGTACTTGAAATAGAACGACGGGCGAATGAACTGATCGGCTGCGATGCGCCATCGAGCACTACGCGGTTCAA
GGCTTGAAGACGCGCGTTTGTGGAC

107>chr1:2531540-2532952

PP2220-PP2221-PP2222-PP2223-PP2224

C4-type zinc finger DksA/TraR family protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein



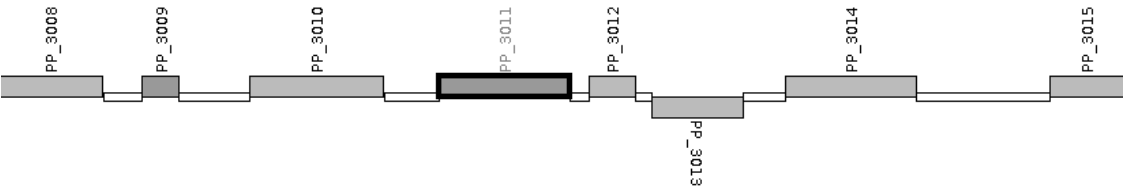
697	-1	AGGCACGGCCATTTCT	10.30
807	1	TGGCCCACTGTTTCA	10.23
1286	1	AGGCAGAACGTTTGCT	12.28

CTCGACCGCCACCAGCGCCAGGTATAAAACCGCGCGTGGTGCCAAGCCCCCTCGGAGCTATCCCTGGGGCTTTTTGCGTTTTCTC
GACGAGACCGTTTTTGTGCGCTTACGAAACACTGCTGTACCGCAATGCGCTGTTTTCCGCACCACTGTGTCAGGCGTATCATGG
CTTTATCGTTAGGGTGCTAATTAAATTCGGGAGGGGATGATGAATAGCCGAGTCGATGTGGCTGTGATGATAGGGTCGGGTGT
GCCGCGCACCTTGCAGGCGCTGGGCAAGCGTATTTGCTGGGTAGTGTCTGGTCAATGGCGAGCGTCGCGGCACCGCCTTCGCCA
CGCGCGAAGAAGCGCTTGAGTGCCAGGCTGCCCTGGCAGCAGCAGCTGAAGAAAGGGCTGGCTGCCTGAAAATGTTTATTGCCT
CTCGACGGGTTTTGCGGTTTTCGGGCAATTTTGTCTTACAGTAATGCGCACATGGATGCCAGGGCTTGTCTTCTAGCAGGCTC
ACGCCATTGGTTGCGTTTTCTGGCGAGTGATTTTCAGGCATCACGCTTCCCAAGCCGGGAATGAGCCAAACGCCTTCGGTTGAA
GGCGATTCTGGCAAACAGAGTAAAGATTCTTGC GCGCTGCATCGTCAGCGAGCACAGACATTTTCGCATATCGCTTTTATTACT
CTTTTTGCCTATCGATAAGAAATGGCCGTGCGCTCCCCGAGCTTGGGTGAGGGCGGGTTGTAACCGGTTGAGGATTACTTCATT
GGCAGTCAGCACACTTGATACACATGCGTTGTTTCGCCCTGGGCGACTTGCGCGGTAAATTTGGCCCAACTGTTTCAGGGCCGCT
TCATCTATGTCACCGAACAGAGTCCCGAAGGCCTGTACATGGCCGAAATCGACACCGAGAGTGCCTGGTAGTCGATGACAAG
CAGCGCCTTGAAGTGAAGTTCGGCGACCACTTTTCGTGCTGCCGTATTGCCAGCCGCGAAGGTGGCAAGCTGGAATGCGCTT
TCGCGACATCAAGTTGAATGTGTATGGCGTAGGTGATTACGCCTTCGTTTCTGTGCCGGAAGGCGAGGGCATCGTATTTCTGTG
AAGGCCATGGCGTGATGCTGGTATTCGCCGCGCAGCAGCAAGTGCAGGAAGGCCTGGGCAAGTTGCTTAAAGCAGTGACTGGC
AAAGTCGCCAAATGGCGCAAGGGTGAAGTGAACCTGACCACCTTCAAGGCCAGTGAATGACCGACAGTCACGACTCACCAGCCTCGCGG
GCCGAGTTTCATCGGCAGCACCAGGCAGATGCCGTGGCTGAGGCAGAACGTTTGCTGGCCGGGCGTGAGAAGCTGCAAGGCGC
CTGGTTGACTTGGGTAGCGGCTGAGCTCTATCGCCTCAGCCCGCCACCGTATGCCGCCATGGTCCGGCGCGAGTTGCAGCGCC
T

** 108>chr1:3401474-3404581

PP3008-PP3009-PP3010-PP3011-PP3012-PP3013-PP3014-PP3015

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein- medium chain acyl-CoA ligase



45	-1	CGGCATGGACCTCGAT	7.20
282	1	TGGAACGGGAATTGCT	16.83

742	-1	CGGTATAATCGTGGCT	7.86
946	1	TGGTACGACCATGGCA	12.52
957	1	TGGCAGGTTGCTGGAT	7.67
1301	-1	TGGCACGATTACTGGA	8.25
1540	1	TGGATCAGTATTGCT	12.34
2217	-1	TGGCAGTGGGTTTGCC	8.51
2725	-1	AGGCACGAAAAATGCA	12.24
3051	1	TGGCGTGATCTTTGCT	15.03

CGCTGTTGAACGCTACATGCCCCGGCAATATCGAGGTCCATGCCGATAAAAGGTGGGCCTGTTTACATCAACGGCAAGGAAGCC
ACGCTGAAGAAATTCAATGACAACTATTTTCGAGGCCAAAGGTGGCGGGTAACGGTATCGTTGTTCGATCAACCCGGACGGCTC
GCCTGACGTCCTCGTATACCGGTAAGAACAAGCCAAATGGCGTATGCCAGATCAAGGACTGACTGCGCGATTGCGCGGTTGGGC
TGGCGCAGTGTCAGCGGGCTGCATCAGGGCGCTGGAAACGGGAATTGCTGTGACCCCTGAGACATTGATCATGCGGAGTACGCA
GAAATGACTCAGGATGACCGCTATTACATGATTTTTCAGCGTGGTTGCTGTGCTGGTACTCGATCTGGCGGCGACTTATGTGTT
TCTCAACGCCATCCCCTGACCCCGGTAATGGGTAGGCCTTACTCGTAATCGGGGGCAAGGCAGGGCGTGAGGGAAACGCCCCG
AACCTATATAGCAAAACAACTGATGCCCTGTTGTAGTTGAGCAATAACAATGGGCAGGACAAAAACAAAAAAGGGCAGGC
TGCTTGGCAACATTTCCAGTTTTCGATGGGGCTGCAGGAGCGTGTGCGCTGAAAAACTCAAGATCGCTGGCAGGTGCAATAC
TGGTAATCGGGGCAGCCTCGTTGTTTCGTCGCGAGGCTGCGCACAAACCTGATGTGCGTGACAGCCACGATTATACCGCTGGC
ACTACCGTGAAAAAGCCACCCGCTTATCTGGGCTGCGTCAAAGGCGAGCTACAAGGGAATGTGAAAACCTATGAAGTCGAGGG
TGATAACGCGGTGAGGCTTTTCGTCGAAAGCACTGACCCGACAAGGCAGAGGGGCTTGTAGAGTTGCGGGGCACGGGAAGCG
AGCGCCACTTCACGGCCTATCAACGTGATGCCGTTGGTACGACCATGGCAAGTTGCTGCTGGATGCTGCACTGATGTGTTCAAAGCG
TAATCATCCAACCCCCACACCAATAGCCCGCCGTCGAGAGCGGGCTTTTTGTGTGCCCATCGCCTGCCCGGCAACGTTCAAAA
AAAGGGCGGGTGAGCCGGTATGGCCTGAGCAGCGTTGCTTTGCATTTGCCGGCCCCGCCGTAATATTCGTTGTATTTGGAT
GGAGAGTCGAGGTGGAAGCAAGAAGCGTAGTTGCCGAAATGTTTCATTGGGATTCCGACGCATTTCTGGGTTTTGCCTGTTGC
CGGCCTGGTTGCCTACTACGGGCTGAAGTGGTCCGCCAGATCCAGTAATCCGTGCCAACCCTGCTACAAGCCTCGACTTACCTGT
TATTGCTGGTACTGGCCGTTCTGCCCAACGGCTTTTATGCATGTTTCCCTCCCGCGCCCCGAGCCGGATGTGCTGTTGAATCAA
TCACCGTTGCCCAACTATGCAGGGCGCTTCTACCTGGATGCGTTCTATGTCTTCAGTGGCTGGGCGCTGAGCAAAGTGGTCAA
GTTGAAGTTTACGCTGAGTCTCAGCTCGCATTCCTGATGCATGACGTTGGATCAGTATTGCTTACCCCTTTTGAAACCGGTGCA
TCTGGGGGATACGGCAATGCTCTCTGAAGATCTGTACATCATGTTTCGGGATTGTGCGCAGTGTGCTGGCCCTGGATATAGCAG
CCATCGTTTTGTACAGGGGAGCCAAAGCCCTGAGCCCGCATTTGGTTTCGAATGGTGCCGGAGCATCATGAGGACTTCAGCTTT
TCTGCTGTACCTGCAGCACCGAACCCTTGTGCTCAGTTGCCAGCAATCCGCCGGCGTCGGTGTGCTGTGATTGTGCTCGCTCGCA
AGTGGTACGTCGCGGAGCGAAGATGCTACGGCCTTGTTCACCGGTTTTAAGGGTGACGAGTTTGCCATTCTGATAGAAGAA
CTGAGTTGTGTTGGCGTTGGTTTGCATAGTCTGAAGCCCCCTGCCGAGTTCGTGGTGTGATGTGCCATGGGCAGTTTCACTGTTG
CAGCGTGACCTTGTCTACTGGCAGAAATATCAGGTGCGCTGCACGGATCCCGCTTGGGCGCCGTCCTGCAGCAAGACTTTGGTT
GATTGGTAACCGCAGCTCACCCCCGTAAAAATGCAGCCTATCCATAACGGCCGATTGCAAATGCCTGACTTTTCGTATTTTTAT
CGCTACTGTGTTGGTTGCCTGCCTCGCCGTTTGCGCAACCCCCGCAAACTGACCAGGAAATCGCCGC
AGCAGTACGCCGCTGTGTCCTGCCGAAATGGCAGGCGCTGGCGCCACAGGCCACGCAGAAGTCGATAGCCACGGCTACCGG
CTCACGGCGCCAAGCGCCGTGGCAAGCGACGATGTGCTTGATGTGGTTGACGCTCACGAGGGCAGCCGCGCAGCTTCTACAA
GGGCAGCTTTCTGTCTGGCGACAAGTTACGCCAGGCTGTGAGGCAATGCCTGGATTGAATCAGTGACCCGAGCGGGTTGTGCC
GCCCCGATCGCCTGCAGTTACCCCAACTCATCCCGCTTGTTCAAATGTTTCGCACTTCACCTGCGCCTCCATTTCGGCTCGGATA
GCTGGGTTTGAGCCGCTCCTTTGCCTGATTGTCATAAATGTCGAACCTCCACACACGGTAGCGGCGTAGTAGCGGCTGCCAA
CGCGGAACGATTCTTTTCGATCGGCACAGCGGGAACGATAACGAATCTTGGTTGCAATTTTCGTGCTCCCCAGGCAGAGAT
TTAAGTATTAGTCTCGCAAGAGGTAACCATCAAGCAGCCTCATGAATAAAGGCGCTGGTCCGAACGCCGGTGGGTGACAGTA
CTGTCATCAAATGAAAAACCCGCTGTGCTCCGATGCGAAGCACCCCGCAGGTGAGTTTCGGTGGCGCTGGAAAACTGATCAGCC
AGCACCCGTCCGTCGCTCGGTGCGGGTGATCGGTATTCTGATCCACAGTGGGGGGAACAACCTTTGGCCTTGGTGGTCTGT
CATGAAGGTGTGAGTTGGACCAGCCTGCATTGGCCAGGCACCCCTTAGCCCCATCTTGTGCTGGCGTGATCTTTGCTAGTGT
GCAGCCCCAAAAACCCGCCAAAAAAGGGAATGGCGG

109>chr1:4484189-4486340

PP3976-PP3977-PP3978

isochorismatase superfamily hydrolase- hypothetical protein- hypothetical protein



Rho independent terminator (cad-) GCCCTGATTATTCAGGGC→GCCCTGAATAATCAGGGC

194	-1	AGGAACCAACTTTGCG	7.25
1878	1	CGGCAAGATCAATGCT	9.20

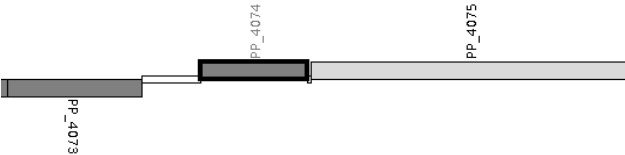
GCGCGACTGGAAAAACCGCGACACCTACGATGCTGTTCATGGCGCTGGTCAAAGAGCATTCGGGCGCCTACGGCATGGGCGTCTG
ACTACGCCATATACCATGGTGCACAAAGCGCCAGAGCGGTTTCAGCACGGCCCCACCTTGGCACCCGTCGCCGCATCGATCTGA
TGCCTGATCAGCAGCAAAAGTTGGTTTCCTGATCAACAAGCGGGGCTGGATCGAGCTGATCCGGGGTAGAGAATCGAGACGGAGT
GTTCTGAGGCCTCGGGAGAGGCTTCAGCGACCCGTGCTGCCCGGATCTACCTCTTTCAGATTTTTTCAGGATGAATTGGCCCCA
TGAACAGTGCTAACGGCATCGTTATAGCCACCGTTGCGATTTCAGTCGACTGGGCGGCTCAAACCTGGCAGGTGCAACGGCC

AAGCAGATGATGTTGGAGGCATATCGGTACAGCATGCGGAAATGAACAGAGAAATGCGGGCGTGATCCGTATGACAAGGGTA
GAAAAATCGGAGCCCCAAAAACGCAAAAAGCCCTGAATAATCAGGGCTTTGAATATGGCGGAAGCGTAGAGATTCAAACCCCTTA
TCCTAGGCTCCTACCTACAGACTTAATTTCTGATCGGTAGCTCGACGTCCTTTATGGACTGTAAGCTAGCAAAACCGGGTCTT
CCGCGCAAGCTTCAGGATTTCCGCAAGCGTGACGTCGACTGCATACCTGCTGAGTGCCAGGCCAAGGACAGTTTTAAAGGGTAA
ATGGATGGCAGAGCACGCGAGAGAAATGCTGCAAGCCTCAGAAACAAGCGAACAGGATCCAGAGCCTTCCCCAGCTGAATGATG
TCACTTCCGCCTTCGCGTTGACCTCCGCCGTCTGTGCCCCCTCTCAAAATCCGCAACCGGGTCGCGGTGAAAGCCCCACGA
AATCTAATGGAAATCACCATGAAAATTTTCACAGACAGGGACAGAGCAGCTCTTAAAGCAGCAATCCCAAAGCTCGCGCCACT
TGTAGGTGCAGATAAGTTCGTAGGGGCCATGAGGCCCTTCAAAATCCTCGTAGATTCCCGAAGAGAAGAAAGGGTCAACCGAT
ACTGCTTAGCGCTGCTTTCAGAACTCGACGAGGTGGATCTACAGGAAATAAACTCAGGGGATGAAAATCTGGACATCGACTTC
GGGGATTTGCTGCAGAGCTGCATGGATGACAGTGACAGTAGAAAAACCGAAGCCTACGCTCGCCTCACTGTCTGCTATACGCTT
GCGCAATCTCGACGCCGAATACAGGCGATACTTCATCCTTGCACTGAAGCAATTGAGCTCTAAGGAGCTCGGCCTGCTTCAGC
AAGGCTACGTTGCCAGACATTGGGAGATCGTCCCTGAAGAGGGGTTTCGATGTTCTCAATCAGGCGACCGTGTATGACCCGAAA
AAGCTCGGAATCATCGGTGGCCTGTCCGTAGAGGTCTTCCGCGCGCTCGGATTCTTAGACGACGACGGAATCACTGCTCTCGG
AGTGATATTTGTGCAATCCACGCATTCGAAAGACGATCTGACTCCAGACGCTCTCGAATGGAGAGTCTGGCAGGAAAACCCGA
TAGCAGTGGTGGTAGGTGACCCTCGAAAGGTAGTCCCCCTTCAAGGAGGCAATGAAAAATCACCGAGTGAAAGTGAGTGAGCTA
GCCGACTCAGTGCTGGGTGGCGCTCGTAACGACCGCGTAGCGTTCAATGCGGTAGCTTTCCTTGGCCCGTTTCGGCAGTTGGTC
ACACAACCAAGAATGAAATGGTCTGGCTACACAGATAAGTATCCGAGCCAGTGCATGCTGATCGACGCAGAGGGAGGCTCCC
TTAACGGACGATACTGTAAGACTTTTAGCGTCCACGACCCACTGGACGAGA **CGGCAAGATCAATGCT** GCGCCACTACAATTAC
ATCGTTGACGACCCGATCATTCATAGGTATGTGCCACCCGTGGTGTAGCCACAAACGCAACATCGATGGCAGCAGCTATGAG
CTCCACAGGCACACAAAGCATGACCCGGCAGCGAGCTGCCATGAAGCCGCCCTGATGGAGCATTTCACCCGTGGCTTTAAGAC
GGGATCGATACCGACAGTGGGCTACATGGCGTAA GCGTCCGGCGAACTCACCTTCCGAATCCAGCATTAAGGGCG

110>chr1:4601473-4603384

PP4073-PP4074-PP4075

hypothetical protein- hypothetical protein- hypothetical protein



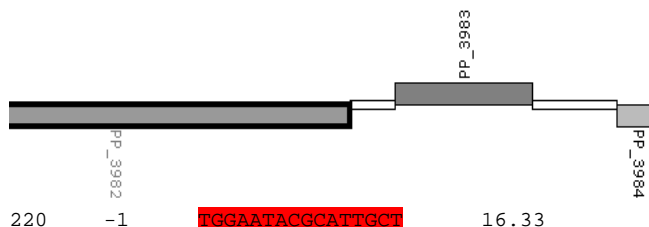
395	-1	TGGCGTGGGACTTTCA	9.28
955	1	TGGCAGTCAACCTGCA	9.81
1488	-1	TGGAACGCGGGTTCAT	7.02

CCCCCTCTCAACCGCACCTGCACTCGGCTGGCATCGACGGGTTGGGCGGTGACCAGTTGCAACCTCGAGATGTTCTGCACGCAG
CTGATGATCAGGTAGGGGTGCGGTGCAACTGAAGCAATCGCAGGTGCAGAGATCAGGAGCCCGCCTTCTTCAGAGCGGAGGCG
AAACCTCAAGTCCTCGGGCGCCCGCCCCGTCTCATGGATCAATACGCGACGCACCGTGGGTGCCTCCAGCTCCTGCGCTGACC
ACTGTGCTGTCGGCGTGAAATCCCGGCGTACCCGCCGCTGATCGAAACACGCCAGGCGCTCGATATTGGACACGATCCGTGGG
CAGTCCGGCGATGCACGGGTCAAGGCAGGCATTAACAAGAAAAGTAA **TGAAAGTCCCACGCCA** CCTGTATAACGAATAATCAT
CTCACCTTAACTCTCCCACTCAATCGTACACATGCCCCTGCGTTAACCAGCCCTCGCAACAGCGGAAAAGAGGCTAGTACAT
AAACTCAATTCTATTCAATAATTTATTT **TGTTAC** ATATTTGAACTCGACGCTCAACGATTATCCAGCGCATGGTTTTTACGCA
ACGAATAACTCAAATCCCAAGAATCATGCTTATTAAACGTTTAAACGCGCAAGCTTACTTGTAGGAAGCGTCTACATATAAAA
CCCACACTAAAAAGATATATAACCATGACTAAACGCTCCGATTCCGTTGCACCCAAAGAACGCATCAACATCAAATATGTGC
CCGCCACCGGTGACGAGCAGGCCGAGGTAGAGCTGCCGCACAAGATGATGGTGTGGGCGACTTCGGCCTCGATGACAGCCGC
TCCCTCGAAGACCGCCAGGTCTATGCGCATCGATAAACACACCTTCAACAACGTGTTGAATGACGCCGATGTGAGCCTGGCCAT
GTCGGTGGCCTCCCGCTTGACGCAACTCCGGAATGCAGAGC **TGGCAGTCAACCTGCA** ATTCAAGTCCATCCAGGACTTCGGCC
CAGATCGCATCGCACGCCAGGTGCCCGAGCTGAACAAGCTGCTGCAGTTGCGTGAAGCGCTGGTTGCCCTGAAAGGCCCGCTG
GGCAACGTGCCCACCTTCCGCAAAACAGCTGCAGCAGCTTCTGAACGACGCGCATGCCCGCAAGCAACTCGCGCAAGAACTCGA
CCTGGTGCTTGAAGCGCCAAAAGCAGACTGAGACAACGGAGCGTCCCC **ATGCCAAAGCCAAGCACA** ACTGTCACTGTTGAAAC
ACAGGCCGAAACACTGAGCAATGCCACCTTGCTCGACCAGATCATGGCAGAGACCAAGTTGGTTCCCACACAAGAGGGTTACC
AAGTGGCCAGGCAGGGTGTATCCGCCCTTCATTGCCGAAATTTCTAAAAACAATGACCCAGATCAATTGATCAACAAACACCGC
GTCGACCAGATGATTGCCGAGCTGGATCGGGTCTCAGCAAGCAGATGGATGCCATTCTGC **ATGAACCCGCGTTCCA** GCAACT
TGAATCCGCGTGCGAAGCCTCAAACCTTCTGGTCGACCGTACGGACTTTTCGCGAGAACATCAAGCTCGAAGTCTTGCACGTCA
GCAAGGAAGACCTGCTCGATGACTTCGAGAACGCCGCCGACATTACCTGCAGTGGTATTTATAAACACGTCTATACCGCCGGC
TACGGCCAGTTTCGGTGGCGAGCCGGTTCGCGGCAATGGTTGGCAACTACAACCTTCGGCCCCCTCTTCGCCTGATATCAAACCTGTT
GAGCTACATAGCGTCAGTCGGTGGCATGTCGCATGCGCCCTTCATTGCGGCACCCCTCCCCAGAGTTTTTTCAACCTGAGCAGCT
TCGAAGCGCTACCCAACCTGAAAGAAATCAAAGACATCTTCGCCGGCCACGGCATGCCAAGTGGCGCGCGTTCCGCGAGAGC
GA

111>chr1:4491263-4493443

PP3982-PP3983-PP3984

hypothetical protein- hypothetical protein - ISPpu13, transposase Orf3

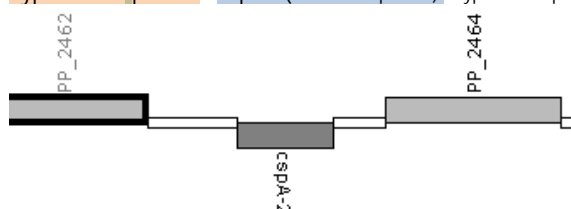


220 -1 TGAATACGCATTGCT 16.33

TTGGCTGCAATCCGTGAAAAGGAGTCGATCCGATTTTTCTCGATGAAGCAGAATCTGTAAGCGTCCGCATTAGAAGCGATCTC
 CGTGGGCTGCCCAGCCAAATTCAGCCCCGGAGCTGGGGAGCCACAAAACGTTCTCATGAATATTGCGCAGGTACTGCCCAG
 CATCGATACGCTTCTGGGCACCTTCATCCACGGCCCCCAGCAATGCGTATTCCAAGGCTTACACAGGCTGGTTTTTCCGCTG
 CCGTTAGGCCCATAGAACAGAATCAGGCGCTTGGTGAGATCAAACGTCTCGGGGCTTCGAAACCCTCGAAACGGGCCAATCGT
 CAGCTCAGAGAGGCTTCGCCAACTCCAGCCGTCCCCTCCCGTGATGGCATTCAACCAGGGCAATGTCGGGTTAATCTGAGCAA
 GTTGACCCCGTGCAAGTTCAACGATACGAATTGCCCGCTGACTGCGATTGCGGGACGTAGCACTGATTGTATCGAAATGCTGC
 AGCACCAAATTACCCATGCGCCGCGCGTCATCCGATGCAGCAGTCGCAGGTTTCGTGAAGCCAACGTAAGAAATGCTGATAGTC
 GTGTTCCGCAGATGCCATCCGTGCCTCCCCAGGCTCAATCTCAATCTTTGCTAGCTCTGTCTGTTGGGCGTTACTTAGGAGCCC
 CACAGCCACAAAGTTCTCGGTGCGCACCTCATGATAGCAACGCGCCAGAAGTGTATCGCTCGGGAGCTTGGATGCTCAGTCGA
 TTGTGTATTGTGAGCCTAATACCCGCCACAGCAACCTCAGTCATGATCCGTTGGTTACATATACATCCAAGGCGAACTCAAAA
 GGTATGATGGGGAGGATTTTCATCTTGGGCTCGAATATGACCACTAGCACCAGCAACACTGGAATGGCGTTATCAACGCCTGAC
 CTCTTAGAGAGACTCACACCATGGAGGCCACGGAGCAATCATGGTGATCCAGGACGGGGTAGCCCCGGGCTGATTTGGACGC
 TGTACCTACCAGACTGACAGCGGGATAGCAGAAAGGCTGTTGAGAACGATCCGAGCACGCCTGGCCCCCTACGAGTTCACGC
 GTGTGGAGCCGATACATAGATTCCAACCAACGCTTACGATCACTCATCAAGACGGCCAGCCACGCGAGATCCACCTGCAG
 TCGTCATTTCGCCAGCATCCGAATCACAGACCACGTTGAGATCCAAATTTACCGCAACGGGGTACTGATTACAGGACACCGCACT
 AGAGGGTTCGAGATCGTCTCAGTCCGAAGCAGAATTGCTATCGAGGCATGCAGATGACGATCTGCTCAGTCGATTGCTGGCAA
 GCAAAAGCGCTTCTAAGAGCAATCCAAGCGACGAGTTACCCATCTCTACGAAATCCTAGAAGCCCTACAAAGCAAGTTCGTG
 AAACCGGCGACATTGATCAACGAGCTTGGGATCGAGAAAGCGAAGGTTTCGCAAATTCATTCAGTCTGCAATGACCCATCAAC
 TGCCAGCCGCCACCGAGGGCTGGCAAAAGGCCGTTGAAAGAGCCAGCGCTGATCAGTACCACCATGCTCGAACCTTCGCTT
 GGGACATGATTCTTCTACGCGCAGTGGTTGGAAAAGAAATCGGCGCAGCCTGACTGACGCTCGTGGCGTCAGCGTTTCGCAA
 GCGCTTTACGGTGCTGAAGGCCCTAAGGGCGAGCCAGCCTTTGAGCGTCCATGTCACATTCAAGTACAGAACGAGGTTGCTCG
 CTGCCCTCCACTGCACGACTTAAAGATCACGCCATATCTTAACCTAGAGTGGCTGGCTAGGCTCTGTATGAGAAGAGATGTC
 GCAAAACACCGGATGGAGCAAGCCGATGAGACCAATTGCGGCATTGCTTTTCGCGAGCTTGTCTGAAGCGTGTCAATCCGCCGC
 TTCTCTTTTCAGCCAGCCAAACATGCGCTCGATGATATTGCGCTGTCTGGTACTTTGGCCGATCAAACAGTCTGAATAAGCCAGC
 TTGGGCTAGCGCTTCATCGATCGCATCGGAACGACGGGCTGCATTCGATATCGGTTCGAGTAGGGGCGCAACGCTTCGTAAGC
 GATCCATAAAACCAACCCGTTACATGAAGGACGGGAAAAATCAGGTATTTCAGTTCGGGCACCTGCCCGCTTGACTCTTCAACC
 CGAACAACTGGTCAGCTAGCTG

112>chr1:2808094-2809303 PP2462-63-64

hypothetical protein -cspA2 (cold shock protein) - hypothetical protein



375 -1 TGGCACGGGCTTTGCC 14.39 mala orientacion
 511 -1 GGGCATGCAGGCTGCA 10.28

TGTCTTGGCGGGTTGCGAGCACTGGTGGCAATGCTGATGGCGGTGGTGCGCCGGCCGCGTTCAGCGGGCAACGATGGCCCGCTGCG
 AAGCCAGTGGTGCCGACTTTGCCATGGGCAAGCAGGCCAGCGCCGAATTGCTGGAGCAGGCACGCAAGGCCAGCGGCTCGCAG
 ATGGCGCGCATTCTCAAGCCGACGACGTGGTCAACCTGGAGTACCGCTCCGAGCGCCTGAACCTGAACGTGGACGAGCAGGG
 CAGGGTAACCCGCGTCAACTGCGGTTGATGCACGCGGGGGCAACTGCCTTGCAGCAAAATGTGAAAAGCCTGCGCGGTGCGCTT
 GTAGGAGCGGGTTACCCCGCAACACGCGCAAAAGCCCGTGCCAATCACCCCTACAGTCGGTTTCGAGGCAATCCCGCCCCCTTC
 AGATGATGCATCACCCATAAAAAAACCCGCCACAAGGGCGGGTTTTTTTTTACAGCTATCCGAATTACTCCGGACGAACCTGTGC
 AGCCTGCATGCCCCTCTGTCGCCGCTCGGCCAGCAAGGAAACAGTCTGGCCTTCTTTTCAGGCTCTTGAAGCCGTGAGATTGCA
 TGGCTTTGAAGTGTACGAACAGGTCGTCGCCGCCGCTGCTGGGGTGATGAAGCCGTAGCCTTTCTCATCATTGAACATTG
 ACGGTGCCCTTGTGGCGATTGGACATGGGTGAATCTCCAGAACATTTAGTTTTTTTTCAGTGGTGCAATGCGGCCGAGGCTACGG
 AGCACGGGATACATCATAGTCTAATTCTGCGCATCTAGCGCCTTTTACCTTCGAGGATATTGATCCAGCTCAAAGAATGGCT
 GGCCATCACCGGCTTTAAGGTTTCAGCTCTTCGGTGCGCAGGCCGTGTTTACCACCGACTGCGCCTTCTGCATCAGTTTGGCG
 TCAACGCCGCTCCTTGCTGTCGAGGTGCGCAATCTCGGCGTGGTGAAATCTTTTGTATGGCTTGCAGCGCCGAGTCGAGTG
 TTTTTTCGCGGTGGCAGCGTCAACGCCCTGGCCGCTGGCCACTTGCCTGCACTGGGTGATGAGGCGGCTCCTTCCCGGCTG
 GGAAGTTGCCGGGCTTCGAGCCACGGGCGAGCAGGCGGCCAGCGGCCAGGGCCAGAAGAGACGGAACCTGCATCACC
 AGTTACTCCTTGGGTTAAGGTCTCATCAAGAGTAGGTTGCTTCCCAA

113>chr1:3225894-3227516

PP2827-PP2828

zinc-containing alcohol dehydrogenase- hypothetical protein



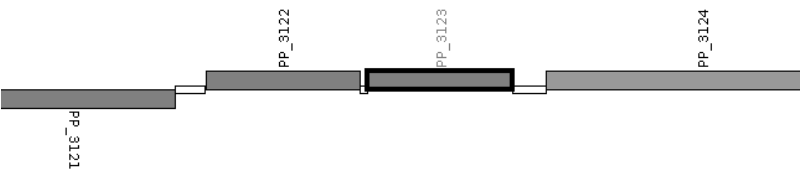
758	1	TGGCACAAGCGGCGAA	7.83
1052	1	TGGGATGAGCATGGCT	9.42
1190	1	AGGTAAGTTTGGTGCA	7.13
1305	-1	TTGGTAGATATAATGCA	10.48

ACCAGTGCCAAACGACCACCCGGTGTACGGCGATGTCATCGTACTGCCCCGTACAGCCATCACGCGCTACCCGAATGTGCTCAC
CCCGATCGAGGCCAGCGTGCCTACACCCCGCTGCTGATCGCCTATTTTCGCCTACGTCGACCTGGCACGTGCCAAGGCCGGGC
AGACAGCACTGGTCACCGATGCCAGCCATTGCGCCGGGCGCTGCCCTTCGTGCAGCTGGGCAGGGCCCTGGGGCTGAAAGTGTTT
GCCGCCACCAAGGAAGCGGCGCAGCGTGACTACCTGCTGGGCTTGGGCGCAGACAAAGTGATCGTCACCGAAGAGCAAGACCT
GCTGCTGCAGATTTGGCAAGTACACCGATGGCCGTGGTGTGGACATGGTGTCTGACGGCATGGGCGGGCCCGCAGATGTCACTGT
TGGGTGATGTGCTGGCGCCGCGTGGCAGCCTGGTGTGCTGTACGGTCTGCAAGGCGGCAACCAGACGCCGTTCCCGGCTTGCGCG
GCATTCCAGAAGAACATTTCAGTTCTATGTGCACTGCATCGGTAATTTACCGGCAAGCCAGAGCTTGGCATCAGCCAGGACCA
GGTGGCGCTGCAGCGTGCCTTGCGCGATATCAACCAGTTTACGCGCCGACCAGCTGCTGACACCGCAGATCATCAAGGTGTACC
CGTTCGAGCAGGTGGTTCGAGGCGCATCGTTACATGGACCAATGCCCGTGCAGGCGGGCGCGTCTGTGCTGGACATGGCGCAACAC
TGACGGTGGATGGCACAAGCGGCGAAACCCGGGCAAGGTCCCGGGTTTTTTTGTGCGCGGGATAAAGTGATTCAACACTTAAAGT
AGGACTGTTCTTACAATAAATCACGATATGGACTACATATAAGTCCGTAGTTTTTCGGGATGTCAGAAATATCCCGGCAAATAA
TCAGCCTTGAACGCTTTTGCCTTGCAGTCACTGTGAAGTACACGGATGCTGAATGGTTTTTTTTTACCCTGAAGTGTATCTTC
AATTCGCGCTGCCTCCCTCTCGATAATGGCCCAATGATAGTTTGTGCAAGGAACGTTGGGATGAGCATGGCTATGCCTGATATG
GAGCAGTATGTGACAGCGACAGGCCATCGCAGGGGCGGTTTTTCTCGATGGCTTGGCGACAGTGAAGGGTTACGTCATTACT
TTCATTTTGTGTAGGAAATTTCTTCTAGGTAAGTTTGGTGCAATGTTACGCTCAAATGTTGGGTGCATGCGCTGGCTGCATG
AAGTTGATGAGGTGATTGCTGACTGCTATTCACGACCAGGCGATGCATTATATCTACCAAGCAAGTACTCGAGCGCTTGTTGA
ATCATATGTCCCAGGCGCAGCGCGCTTCCTTGCAGTTGCTGATACAACGCCTGTTGGTTCGCTGCAGGTGGGCGGAGTACATC
GGTACTTTTCAGCTTGCAGGTATTGCAAGGGAGCGACCGCCATAGCAGCCGGCTGCTGGCCATGTTGCGTGCCGCGCAACTGAG
CATTGCCCTGCGTTTCGCCGTAACTTTCCAGCTGCGGGTATTTGGTGGTCAGCCTGCCGGTTGCCGATAACGCCACGCTGGAAG
CTCACGAGCGCAGTTTCAGTGCCTTGTTCATGCAGGATGACCCGC

114>chr1:3532921-3534961

PP3121-PP3122-PP3123-PP3124

Transcriptional regulator- 3-oxoacid CoA-transferase subunit A- 3-oxoacid CoA-transferase subunit B- short-chain fatty acid transporter family protein



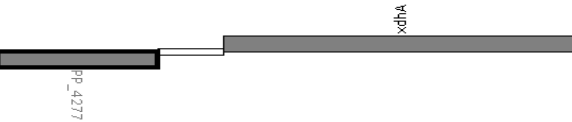
59	-1	TGGCAGCGCGCCTGCT	15.90
776	1	TGGCACCCCGGTTGCC	11.79
1269	1	CGGAAAACGGCTTGCT	9.99
1325	-1	CGGCATCGAGGGTGCT	7.82

PhhR binding region 1 and 2 upstream of PP3122-PP3123 op

GAAGCGCTGGCGCAGCATCTCTTCGGTGTCTGCTCCAGTTCGGCCAGCAGGCGGCGTGGCAAGTGGCAGCAGCACTTCGCCTTCGG
CAGTCAGGCTGACGCTGCGCGTGGTTCGGCTGAGCAGGGCGCCGCCGAGGTTTTCTTCCAGCGCCTTGATGGTCAGGCTCAGT
GCCGGTTGCGAAACGTGCAGGTGTTTACCGGCCCTGGGCGAAGCTCTGGTACTTGGCCACGGCGACAAAGGCGCGCAGTTGTTT
GACGTTTCATGTCGGGCCTATCGTTTGTGTTTGTAAAAATATCAATCGATGACGAAAACAAAATTAACAAATCAGTCGCTTGCG
GTGAAGATGTCTGCACACGCTCACCGACAGCCTCGTCGGTTAAACAACATACAAAAGGCGGATCAGCATGGCCGGACTGGACAA
GCGCGTTGCAACCTATGAGCAGGCCCTCGAAGGCCTGACCGACAACATGACGGTACTGGCCGGTGGTTTTCGGCCTGTGCGGCA
TCCCAGAAAACCTTATCAGCGAAATCAAGCGGCGCGCTCAAGGCCCTGACCGTGGTTTTCCAACAACATGCGGCGTGACGGT
TTTGGTCTGGGCGTGTCTGCTGGAAGACCGGCAGATTTCGAAGATGATCGCCTCCTACGTGGGCGAAAACGCCGAGTTTCAACG
CCAGTTGCTCAGTGGCGAGCTGGAAGTGGAAGTACCCACAGGGCACCTTCGCCGAAAAAATGCGCGCAGGTGGTGCCGGCA
TTCCGGCGTTCTACACCGCCACCGGCTATGGCACCCCGGTTGGCGATGGCAAGGAAGTCCGCGAGTTCAAGGGCCGCAAGTAC
ATCCTGGAAGAATCCATCACCGGTGACTTCGCCATCGTCAAGGGCTGGAAGGCCGACCACTACGGCAACGTGGTGTATCGCAA
CACTGCGCAAAACTTCAACCCGCTGGCGGCCACCGCCGGCAAGATCACCGTGGTTCGAAGTGAAGAAATCGTCGAGCCCGGCG
TGCTGCTGCCAAGCGAAATCCACACCCCGGCATCTATGTGGACCGTGTCTATCGTCGGCACCTTCGAAAAGCGTATCGAAAAG

CGCACCGTCAAGGCCTGAGCGCCATCCACCCGAACAATAAAGAGATCCTGACCATGGCACTGACCCGCGAACAGATGGCGCAA
CGCGTTGCCCCTGAACTGAAGGACGGCTACTACGTCAATCTGGGCATCGGCATCCCCACCTTGGTGGCCAACTATGTACCCGC
CGACATGGATGTGATGCTGCAATCGGAAAAACGGCTTGCTCGGCATGGGCGAATTCGCCACCGAAAGCACCCCTCGATGCCGACA
TGATCAACGCCGCAAGCAAACCTGTCACCGCCCGCGCGCCTCGATTTTCGATTTCGGCACAATCGTTTCGCCATGATCCGT
GGCGGCCACGTGACCTGACCGTACTGGGTGCTTTTCGAGGTGGACGTGCAGGGCAACATCGCCTCGTGGATGATTCCGGGCAA
GCTGGTCAAGGGCATGGGCGGGGCCATGGACCTGGTGGCCGGTGCCGACAACATCATCGTCACCATGACCCACGCCTCCAAGG
ACGGCGAGTCCAAGTTGCTGCCAAAGTGCAGCCTGCCGCTGACCGGTGCGGGCTGCATCCGCAAGGTGCTGACCGACCTGGCC
TACCTGGAAATCGAAGACGGCGCCTTCATTCTGCGCGAGACCGCGCCTGGGGTCAGCGTCGAGGAAATCATCGAGAAAACCGC
CGGCAAACTGATCGTGCCGATGATGTGAAGGAAATGACCTTCTAAGGCATGACGTGATCTCACCTGTAGGCGCGGGTTTAC
CCGCGAATGCGTCGGTACATTGACCGCCGATTCGCGGGTAAGCCTGTTCCCTACAGGTTTTTTGCGTTGCCCTGGCAATACCGC
TTCATCCATAAAACCAATAAAAGGAATTCAACCGTGGCCGCTGAAATTCAAGACAGCCGCTCCGCGCGCTTTGCCTTGCGCT
GCTCCAACCTGGGCTGAACGCTGGTTCCCCGACTCCTGGGTGTTTCGCCG

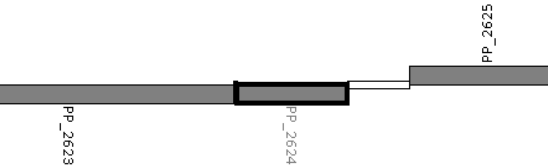
115>chr1:4866192-4867468
PP4277-PP4278
GntR family transcriptional regulator.- XdhA (xanthine dehydrogenase)



457 1 CGGCGCGATCTATGCT 7.81

CTGGATTTCCAGAAACGGGCGCAGGTCCGGCTTCGGTGCGCCATTTTTGCGCAACCGCATTGCCCAGCAGGATGTAGAACTCGC
CCATCAGCGAGCACAGGCTGCGAACACTGCGCTCGTCCAGCTGGGTACATGGGCGCCCCGGCGCGGCAGGATCGCCACCAGA
TGACGGCGTTCGAGGATCAGCAGTGCTTCGCGCACCAGCCGCGGTGACGTTGAGCGCCTGGGTAACCTTTCTGCTCCTGGAT
ACGTTTCGCTTGGCGCCAGCTCGCCGCGATGATGCGTTTCGGCCAGGTAATCGGCAATCTGCTCGGAGAGGCTGTCCGGGGCCT
TGAACGTCATGGTTTTCTTCAAATCATTTGAACTGGGCACAAGGGGCGAATTGTAGCGTACTTGGGCGGTAATCGCGCAGAG
GGGCCAGGCGGTTTATTTGACCTTTTCAGACAGCCACGCGCTCGGCGCGATCTATGCTTGTAAATAGAGGCAGTGTGTGCGGCTG
GGCATGGACATGTGCATTTTCTTGACCCCTTGAGTGCAGAAAAATATTGACCTGCTAGACAGGTCTTGCTTAGAGTCCGCCAAC
AACAAATAAAACCATTGCGAGGCCTTCCCCGTGATCCAGTTTCTCGTCAACCAGGAGCTGCGTAGTGAGCACGCCCTGGACCT
AACATGACGGTGCTGCAGTACCTGCGCGAGCACCTGGGCAAAACCGGCACCAAGGAGGGCTGCGCCAGTGGAGACTGCGGCGC
TTGCACCGTGGTGGTTCGGCGAACTGATCCAGGACGACCAGGGTAACGACAGCCTGCGCTACCGCAGCCTCAATTCTGTGCTGA
CCTTTGTGTCGCTGCTGCACGGCAAGCAAATGATCAGCGTCGAGGGGCTCAAACAACAGGGTCAACTGCACAGCGTTTCAGCAA
GCGATGGCGGACTGCCACGGATCGCAATGCGGCTTCTGCACGCCCGGCTTCGTGTCATGTCTACTGTTTGCCTGCAAAAGAACAG
CAGCGGCCCGACCTGCATCAGGCCCAGGAAGCCCTGGCTGGCAACCTGTGCCGCTGCACCGGTTACCGACCGATCCTCGACG
CCGCCGAGCAGAGCTGCCGCCAGCCCTGCCCGCAGCAGTTTCGATACCCAGCAGGCGCAAACCATCAGCCGCCTCAAGGCCATT
GCCCCGACCCAGACCGGCGAGCTGAACAGCGCGCACAAGCGCTGCCCTGGTGCCGCTGACCGTGGCGGATCTGGCCGACCTGTA
CAGCTCGCACCCCCGAAGCGCGACTGCTGGCC

116>chr1:2999489-3001718
PP2623-PP2624-PP2625
hypothetical protein-protein secretion by the type VI secretion system- hypothetical protein



702 1 TGGAATCAGGCTGAT 7.66
1076 1 AGGTGCTGCAATTGCT 7.81
1774 1 AGGAAAGTTCTTTGCG 7.34
1801 -1 TGGCTATATGGCGCA 7.03

TGGCCTGCAACTGGCCAGGGATTCTGTACAGATGGACCGGCAAGTCTTCGACAGCACCGCCGGATTGGGGGCCGATGATGTTT
GGGCACCAGCGGTAGCGGGCGAAGCTGTCTGTTGATGCAACTGGCTAACAGAAAAGCAGAATTGCCCCACAGGTAGTTGTCTGT
CTGCCCGGCGATGTCTTCGTTGTAGTTGAAGCTCTCGATCGGTTGTTCTGCGGGTGGTAAGCGGAGCGAAGCATGAAGCGCG
GCCCCGTGAGGGCGACGTGGCGGGCGTCTTCGCTTTTACGAAAAGCGCGCCACTTGGCATGCCGAGGGCCGGCGAAGAGGTCT
TTTATTTCTCTGAGGTTAGGCAGTCTCTCGAAGCTGTTCAAATTTGAAGAATTCGGGGGCGAGGTGCAGCAAGAAAAGGGGCATG
GGACATGGCGCCAACGGAGGCCATGTAACCTTAGCAACTTGATGTGAGGGGAAGAGGGGCCGAAGTTGTAGTTGCCTACCATGG
CCGCAACCGGCTCTCCCCGAATTGGCCATAACCCGCGGTGTAAACATGCTTGTAGATACCGCTGCAGGTAACGTGAGCAGCA
TTTTTCGAAGTCGTGAGCAGGTCTCTTTACTGACATGCAAGATTTCAAGCTTGATGTTCTCCCTGAAGTCCGTGCGGTGAC
CAGAAGTTTCAGGCTGCGCCATGATGATTCAAGTCTGCGTGAATCGGCATCCATCTGTTTGGCGAGCA

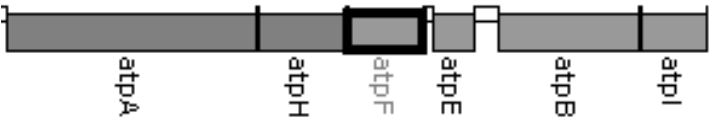
TTCGGTGATCTCGGCAATCATCTGGTCGGCTCGGTGCTTGTGATCAGCTGATCTGGATCATTGCTCTTGAGGATTTTCGGTG
ATGAAGGCAGATACGCCCTGCCTGGCAATCTGGTAGCCCTCCTGGGCAGGTACCAGTTTGGTTTCTGCCATGATCTGGTCGAG
CAGGGTGGTATTGGCTCAATGTGTGTCGGCCGTTGCGTCTGTGGTGATGGCGGTGCTGCTTGGCTTGGGCATGGGGACGCTCCGTT
GTCTCAATCTTTTCTGGCGCCTCGAGCACCAAGTCCAGTTCTTGGGCGAGCTGCTTACGCGCCTGCTCGTTGTTAAGCAGGT
GCTGCAATTGCTTGCAGGAAGGCCGGGACGTTGCCAGCGGGCCCTTTCAGGGCGACCAGTGCTTCGCGCAGCGCCAGCAGCTTG
TTCAGCTCGGGCACCTGGCGCGCGATCCGGTCCGGCCCCGAAATCGTTGATGGACCTGAACATGCAGGTGGACGGCCAGCTCGGT
ATCCGGGGCGGTGCCGAGCCTGGACGGTACCGTCACGTCCAGGCTCACATTGGCGTCTGTTCAACACGCTGTTGAATGTATGTT
TATCGATGCGCATGACCTGACGGTCCCTCAAGCGCACGGCTGTCATCCAGGCCGAAGTCGCCCAGCACCAGCATCTTGTGCGGC
AGCTCCACCTCAGCCTGCTCATCGCTGGTAGCGGGACATACTTGATATTGACGCGTTCTTTTCGGCGCAACGGATCCCGTATT
TTTAGACATCGGTACGCAACTCCCTGTTGGGCTGTAGGATGTTTCAAGTGTAGTTGTGTTTTATTATTGTCTCGGTCTTGTAGG
AAGATTCTACATATGTTCACTGGGTGGATTATTTGTCCAATTTCTATAAAAACCATGCACGCAAGAGTGGTCTTTTGGTCTGA
GCATTAAGATGTAAAGAAATATTTGTTTGTGTGCATTGCTGTAATAGGCTTCTGCTGGAGTTGTTTTAATTGGTCTGC
GCGGGCGCATGGGTATTGCTATCTATTTGTAGGAAAGTTCTTTGCGCCATATAGGCCAATTTGTACTATTTCAGAGAGTAAATTC
AGGATGATTAACCGCTGTGTATATGGCGCCGCTCTCTCGTTGCTGTTTTGTCTGCAGCCGGTGTGGCAGGCTCCACGCGGGA
CTGTCCCCCGATTGTTTCCAACGTCGAGCGACTGGCCTGTTTCGATCAGGCTGCTGGCACCCCGGCGTACACGCCAAAACGGC
AGTGGTCTGCACCGGAGCAGCAGGCCCCACGGTGTGCGTGTGATGGCAAATGAAGCTGAACGGGCACCGGATGACCTGACG
TTTCGCATCGGGAGTCAGACCCAGGACGGGGCAGGCGCGCCAGCGCTTGTGATTTCGGCGCCCCGCCATCGCATCGGGTGATGA
ACGTGCCTACATGGCAATCAGTTGCATACAGGCCATCTCCCGGCTACAGCTGATTGCCAGGCGTCCGATCG

117>chr1 : 6178509- 6181949

PP5415-PP5416-PP5417-PP5418-PP5419-PP5420

ATP synthase F0F1 subunit atp A-H-F-E-B-I

603	-1	TGGCCGAAGCATTGAA	8.86
1577	-1	TGGCCAATCCGTTGCT	13.47
1822	-1	TGGCAAATTCCTGGAA	8.60
2276	-1	TGGCACTGCGTCTGTT	8.74
3041	1	TGGCTTCACTCCTGCA	8.01
3169	-1	TGGAAGGCTTTTCGCT	9.16



GGTTGATGATGGCGTCGATGGCCATGGCGGTCTTGCCGATCTGACGGTCGCCAATGATCAGCTCACGCTGGCCACGGCCGACAGGGATCATGGCGTCGACGGAT
TTGTAACCACTCTGTACAGGCTGGTCTACCGACTTACGCCAGATCAGCCCTGGAGCCACTTCTCGACTGCGTCTGGTGTGGTCCAGAGGACCTTTGCC
GTCGATCGGGTTACCAAGTGCCTCAACGACGCGACCCAGCAGTTCCTTACCAACCGGAACCTCCAGGATGCGGCCGGTGCACCTTGGCGCTCATGCTTTCGGCGA
GGGTGTCTAGGCATAGCCAGGATCACTGACCTACCGAGTCTTGTCTCAGGTTCAAGGCCATGCCGTAGACGCTGCCAGGGAACCTCGATCATTTCGCCGTACATG
ACGTCGGCCAGACCGTGGATCCGCGACGATACCGTCGGATACCGAAACGACGGTACCTTCGTTACGGGCTTGGGAGCTCACATCGAGGTTATCGATGCGGCCCTT
GATGATTTCATAATTTTCGGAAGGATTGAGTTGCTGCATTGCTCTGCTGCCCTTCAAACCTCAAGATTTCAATGCTTCGGGCAATTTTCGCCGCGAA
CAGAGCCATCGATTACCAGGTCACCGGCGCGGATGACGACGCCGCCAATCAGGCTGGCATCTCCGACGCGTGCAGGCGCACTTCTTGGCCTAACCGTGCACGTG
AGAACCTTGGCGAGTTTGTCTTGTCTTGGTTCAACCGGAAGGCATGGTGACTTCCAGCTCCACGGATTTCTCTTGTCTGGCCTTGTACAGGTGCAACAG
AGCGGCAATCTCCGCGAGAAGCAGGAGACGGTCTGTTTCCGCGGCAACATGAATGAAATTTCTGTGCTGTGCAATTGAACCTGTCACCGCACACGTCAATGAACG
TGGCGGCCCTTTCTGCGCTCGTCAGTCGCGGGGCTTGGAGAGGCGCTGCATGGTGTGCTTTCGACACCCGAGCAGCCAGGCCGAGCATGGCTGACCAATTG
GCCAGTTGCTGATGGGCTGGGCTGCTCAAGGCGAGCCTTAGCGTAAGGTGGGGCAACGTTGGTCAAGTTTTCGCCATGATCGCCCTCGCTTAAATTTTCAGCGGC
CAGTTTGTAAACCACTCCGATGCGCGTTTGTATGATTTGTGGCGCAAGGATCTTTTCAGCACCACCAACGGCCAGAGCACCCTTGGGCGAGCAGGGCGT
CTTTAGCGCTGTTTCAAGTTCTGTTTCGATCTCGGCCAGAGCCTGAGCCTTACACGGTCAGCTTCGACGCGAGCCTGTTACGGGCTTCGTCGACAAGCTGAGCA
GCGCGTTTCTTGTCTTGTCTGATGATTTCCGGCTGCTTGTGCTTTAGCTTTCACGCAAGTTGCTGACCCGCTTTCTCTTGGGCCAGCTCCAGGTGCGAGCTGCGCG
GTTGGCAGCGTCCAAGCCGTCGGCAATCTTCTTTTGGCGCTCTTGACAGAGCAGTGATGACCGGAGGCCATACATACTTCATGCAGAAGAGTCAAAAATCAGGA
AAGCAACGGATTGGGCAATCAGGGTTGCATTAATGTTACGCCAACACCTCGCTCGGTCTTAATTCATACAGCCATCAACTCGTGGTGACGAGTGATTAGCCGG
CGATCTGACCAACGAAACGGATTTCGGAAGGTGAAGAACAGAGCGATACCAACACCGATCATGGTTACGGCGTCCGAGCAGACCGGCAACGATGAACATTTTGACC
TGCAGCATCGGAACCATTTCTGGCTGACGAGCAGCGCTTCCAGGAATTTGGCCAACCCAGCAGGCCGAAACCAATGGCGGTACCCAGAGCACCAGGCCGATCAG
CAGAGCAACAGCGATAGCGTTCAGACCAACTACAGTTTCCATCTTTCTCCGACTTTTACGTCGTATTGGTTAGGTTTGTAGTTTGAAGCGGTAAACAAATC
GTTTGGTACAGCATGCCCTTGGCGACTTTTAAAGCCCTCCCCCGTACAGGCAGGGAAGGCTATCAGACACGCCAGGCGGTCTTAATGGTTATCTTCGTGAGCC
ATCGACAGGTAGACGATGGTCAGCATCATGAAGATGAAAGCTTGCAGGGTGATGATCAGGATGTGGAACACAGCCACGCCCTTTCAGCACCACACCCAGGCC
GCTGAGCCACAGCAGGCCGAGCCGAACATTACAGCGATCAGGATGAACACAGCTCGCCAGCATACTGTTGCCGAAACAGACGCGAGTGGCAATCGCGCT
TGGCGATCAGGGTACGAATTCAGCAGGAAGTTGACTGGAATCAGCAGGATCTGCACGAAGATATCTTGTCTGCCAAACGGGTGCAAGGTGAGCTCAGCTCACCAGT
AAGCCGCCAGTCCCTTGACCTTGATGCTGTAGAAGATGATCAGGCGGAAGACGCAAGGCCATGGCCAGGGTCCGCTTCCGGTCCGGTGGTTCGACACGGCGCG
GAACGGAATGTGCGGGTACCGGATCAGGATGGCCAGCTGAGGAATCCAGTGCAGCCGGTATCAGGTCGACGGCGTTCATCAGGAATACCCAGACGAAATGG
TCAGCGCCAGTGGTTCGATTACCGGGCTACGGCCGTGGAAGGAGTCTTACGCTGCCGTTGACGAAGTCGACCATCACTCAACGAAGTTCTGCGAGACCGCCA
GGTTGGCCGGAAGTCGCTTCTTGGCCGCCATGCGGAAGATCAACAGGAAGATCAGACCCAGCGGACGAGCAACCCAGGGTGTCCAGGTGGAACGCCAGAA
GCCCATTGCTTGGCTTCTGACGCGAATGGGCGAAGCCAGCTGCCGCTGGTGTAGTTGACCGTAGGTGAGGTTCTGCAAGTGGTGTGATATAGCCGAAG
CGGTTTCTGCTGCCATGGTTGCCTCAACAGCCCTAAGGTTCTGAAAGTCTTTTATTCATCAGCAGGGGCGCGAACCAGCTGACCAAAAGGGTCAACACGAAGAC
GCCGAATACTGCTAGCGGCGCCAGTGGCTTCACTCCTGCAAGGTCAGTGCAAAAAGCACTGCCGTCAAATCATCTTGCCTGCCTCGCCAGCGTAAACGACT
TGACGATAGCTTGTGCCGCCGAGCCCCGCTGAAGCGAAAAGCCTTCCAAGCGAAATACATTTGGGCGAGCCAGGCAATCAAACCTCCGCAAGGCCCTGAATAT
CCACTGACCGACCCCTTCCACTGCCCAACACCAAGGTTGCCAGCAGCAGTACGACAAATGAGCCAGCAGTACCGGAAAAACCGCCAGCGATGGAAGGCGAG
GCGGTTTGGCGTGCGTATTTCCATCAC

34 TGTAC en los peaks
31 GTAACA
270.000 nt

Ojo: se repite mucho cerca de las cajas cbrB esta secuencia TTTCTC o GAGAAA

Pico	Promotor σN				Sitios CbrB				Gen aguas ab
	Cadena	Codificante	Intergénica	Orientación correcta	Cantidad	pb aguas arriba	Codificante	intergénica	
2	+		1	1	3	97-143		3	PP4696.1
15	+	1		1	1	133		1	PP0036
26	-		1	1	1	1271	1		PP2502
33	+		1	1	1	340		1	PP1809
33	+		1	1	1	384		1	intergénica ag
41	-		1	1	1	61		1	PP2381
46	+		1	1	2	82-117		2	PP3540.1
47	-		1	1	1	286		1	PP2940
51	-		1	1	1	399		1	PP2541
57	-	1		1	1	326	1		PP3656
58	+	1		1	1	110	1		PP1806
65	+		1	1	1	51		1	PP1629
65	+	1		1	1	463	1		PP1630
66	-		1	1	1	solapando		1	PP0636
72	-	1		1	1	67	1		PP1890
86	+	1		1	1	675	1		PP3619
92	+	1		1	2	solapando-41	2		intergénica ag
104	+		1	1	2	105-273		2	PP2810

ajo

crcZ

LysR transcriptional regulator

LysR family transcriptional regulator

hypothetical protein

uas abajo de PP1809

hypothetical protein

crcY

hypothetical protein

transcriptional factor-like protein

aromatic compound specific porine

KpsF/GutQ family protein

RecA (recombinase A)

RecX (recombination regulator)

cold shock DNA-binding domain-containing protein

pili assembly chaperone

hypothetical protein

uas abajo de PP3328

hypothetical protein

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1: 4628167-4628368
CGCAACCAGATCCAATAAGCTTAAACGGCGGAATCAATCTATATCAATACGGGCTAATACAATTGGCTGGATAGATCCA
TTAGGTTTAATACACGAATTTTGAATTGCAGGATACGGAACCCCTTTACACGCAAGGGATGGATTGACCGCTCATGAGCT
ACTACAAAATGCCTGGTTAAAAAATCACCAATTCATAACAA
>chr1: 5338387-5338588
GCGTGTGGGGCTTGGCCCAACCAGGCAGAGAACAACAAAACTGCACTAAAAGCAGCGCTGAACTGGTTGGATCG
ACAGATCAACGTGACATCAGCGGCCAAAGCAATCCGTTTGTCTTTACCCCGGTTTGGGGTCTGCCACAAGCTTCGAG
ATTTGTGGACAGGGCACTCAACAAAAACAAGAAGCCAGCA
>chr1: 5031527-5031728
ATGGTTCGAATTTCCGAATATAGCCGAGACTGCCTGGATGAACTCAGGGCTGAGACTGGTATATCTTACGAGGCTCGCCA
ACTCGGAACTACGCAACTGTTCCGCACTCAAGCTCAAGTAGATAATGCTGCTAAGGACATAGCTATCCTGAAACAGTCAG
GCGTGCCTTTCGAGTTACTTGATCGCGACGGAATTGCTAAA
>chr1: 1628308-1628509
CAGTGAGCAACCGACGGGCAATGGCCAATGGCGTGTGCAGAACCAGGCCGGCTGGGATCAGCGTCTGCCAGGCTACC
TGCGCCAGCATGCCAGGAATCTGCGCTCAAGGGCACTGAAACCGCATTGCCGTATGCCGCGCCGCGCCAGCTGGAAAAC
CGTTAAGTAAGGAGGATCATGCGCGCGCTACCTCTCTTGTC
>chr1: 5603986-5604187
AATCCCGGCTCCCAAGAACTTTACCCTCATACTCAGGCCAATAGATCACATACTTCTAGGGAGCTCATAAACAACACC
CGAGATCTTTCCACACACCATTGGATTAGGGGTCTTCAGCTTCTTCGGCGCCCAAGTCGGAGTAATAACAATGGCGACCA
ATAACCAACCACTTAGCAACAACAACCTTGCTAAAA
>chr1: 3448257-3448458
TTTCTGTGTCTAGCCTGCCGAGAGATTCTCGGACCAAGATAAGCTTTTTGTTGGTATGCGTTTGGGTAAAGCTTTTTATAT
ACCAAATATCCTGCTAGAAGCGACGCGGCGAGGGCTTATCATTCCGCCAATGTATGAACCAAGCGCGCCCGAGTCTTGGCT
GTTTGAGCTGATGTTTGTTCGCTTGTGAGCATTGTTA
>chr1: 6150882-6151083
TACTCTTCCACTCGCTCAGCACTCAGATTATGCTTGCAGGTAGCCCTTAGCCATTAGCTGTCCATCAACGCTAAGGATC
AGCCGCTGACATGGAGTTGATAGTGAAGTTCGATCTAAGGAATGCGATCAATAGCATATCTGACGTGGTATGAATCGA
CCCGCCCCCTTGCAGGATTCGACCAGATCTACATGAAGGT
>chr1: 5101900-5102101
TGGCACGCGAGCCGATGCGCATGGTTTTATCGATTACCCGCGAGCAAGAGCATGCGGTGTGGAACACCCTGATCACCCGC
CAGCTGAAAGTGATCGAAGGCCGTGCGTGCCAGGAATACCTGGACGGCATCGACCAGCTGAAATTGCCGCATGACCGCAT
TCCGCAACTGGGCGAGATCAACAAGGTGCTGGGTGCCACCA
>chr1: 2598918-2599119
AGGGAAGGGGCTTTCGAAAATAGAATCAGAGCCACTCAAGCATTTTGTGGTTTTGGTAGTAATGATGACTCTCCTATTG
AGATAAATCATTTTATGTTTCAGGGTTGATGGGGCCGACGCATGGTTGCCAAAATGGTTTAGAAATTGATTTTGGTGAG
GACAACGAATTCATGCAACCTATACCCCGCTTAAGTCTAT
>chr1: 3938277-3938478
TTACCGCTTCGTCAAGGCCAGGAAATTTAAGAGCATCCAACCTGCGGTATCCCAATTAATGTTTATGATTACATAAAA
ACTATTAACAACAAAAAGCCAAACCTGTATACCATGGAGACTCTCGAGATATTCAAGGGACCACACAGATATCATGA
TCCGAGAGTCGGCACGTGATGCTTTTATTTCCGGCTAGAAGC
>chr1: 899997-900198
TGTTAGCGTATTGGAGTGAGCACGGTTGGTGCGGGTATGGTGACGGGATATTTTGGACTGTCAACCCCCAGGAATATGAA
GGGTAACTGCCTCGCTTATCGAAGGCACAATATTGGAGAAGCGGGATAGATACCACCTGATCGCTCGCGGCGCATTTGG
TGACCTGTATCTCTTTGGAGAGCAAACGGGTTTCTCAGTAA
>chr1: 3515668-3515869
GACAAACAAAATGGATCTTATAAAGCAGTATTCTATTTGTAAGTTCCAAGCGCTTTCAGATGAGGAGGATGAGGAAGAGT
ATCCCGTTGGCGCAGAGCCTTCTGGCGATGAAAGAAGTAAACTCTTTCGGTTGGGAAATATTCACAAGGTTTTTTGTTG
ACCAATCTTATTGAGTTTGCATTGGCGATGTCTGGTCGTGA
>chr1: 1495567-1495768
CCATGCGCGACTCCCAACACAACACCGGTTTTTCCACGCGGGCCATTATCATGGCTATGACCCGCTTTCATGGTGGC
GCCCTGGTGCCACCGGTGTACCAGACGGCTACCTATGCCTTCCCCACTGTCGAGTACGGTGTCTGCCTGCTTCGCCGGGA
GGAGCCTGGGCATTTCTACAGCCGATTTCCAACCCACGC
>chr1: 4588206-4588407
CGCCGCTGAACTGGCCCCAAGGGCCGCGAGATCGACCACGACAACCTGTTCCCCGCCGACATGTGGCGCAAGTTCGGTG
ACATGGGCCTGCTGGGCATCACCGTACCGGAAGAGTACGGCGGCGCTGGCCTGGGCTACCTGGCCCATGTGGTGTGATG
GAAGAGATCAGCCGTGGCTCCGCCTCGGTGGCGCTGCTCTA
>chr1: 39097-39298
ACAAGTCGGCGCACTAGGCTAGCACGCTACAATATCAGAGGGATTGCCTGAAAATTACGCTTTCGAAAATAAAGCCTTCC
GATAACGCATGCATGACCCGTGGATTACAATGTTGACAAGATAAGGAAACACCGGTGGCATTGAGATAGATTCCCCGAA
TTAAGGGGGACCTAATGGTTACAAAAATGAAACATATACA
>chr1: 2345727-2345928
TGTCCAGAATGGGTGTCTAACGTATAACCGTTGCCGTCTTTTATGATGCCCCCTGCACTGACAACCTTCACTCTTGGTTCC
GGTTATCCCTTGACCAAGATGGCGATGCTTGGATGGCTGGGTTTCTGCGCTGTAACCTGCCTATGAAGAAATTTCTAT
CGCGTGTAAAGACAAATTTATGTTTGAATTGAGAATCGTTA
>chr1: 2985147-2985348
GTGAGATCAGGATGGCAACGAAAATGTCGCCGCCGTTGATTGAGTAGTCTATATTTTCATTAATGAGATTGTAACATGAT
AATACCCAGGTAAATAGAAACATGGCAGTGTAGATTTTCCCATGAATACAGAGTCGGACACCCAAGGGTTGCGCAGGCA
TAAGTGTGAACCTGGTTGTTTGAATAAGTTGTCCGGAATTT

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1:593908-594109
GGTCGGTGAGCATGTAGGCAAAGGTCAGGCCAACTGGGTATCGCTGTCCAGGGTCGCCTTGGTGGCCGACACCTTGTG
CCGTGGAACCTTGAGGTGCGCGCTGCTCTCGTTGCGGGCGGTGGTGATGGCGCCTGCGCGCAGGATCATGTCCCCGCGCTG
ATAGCGTGGGCGGCAGGGGCGGCGAGCGCAAGGGCCACAA
>chr1:3307802-3308003
ACGCAGATCGACGAACCTTGTATGCCACTGCCTCTCGAACCAGGGCTACACCATCGCCCCCTCGAAACAGTCGCCGCG
CCTGCTGGAGCTGACCTTTGCCCGGGAACCGTCGAAGCGTTCTGTCAGGCCGTTGCCAATGGCCGGTGCAGGCATTGG
AGTACAAGTCGTTCCCTGCGTTTTCTGTGTAGGCGAAATCCTT
>chr1:3890659-3890860
AGTTCGATGAATTCGAAGCCCATCAGGCCATTGGATTTTCAAAGATATCAGCCATGTTCTGTGTTCTCATCTGCAGCGAA
AATTATTGATTGCGTGGGATGTGGAACAGGAACGGCGGTGAGCACGGAATGCCCCGACGCTACGGGCGAGGTAGTCACC
TATGATCAGCTTGAACCATGGTATGTCATATGGACCCATC
>chr1:4624324-4624525
ACCTGTTATTTTAACTCATTTCCTTGAATCGTGGTCAAACCTTAAGGCGCCTACCTGGATTTCAGCACTCCAAATTAGAGGT
TTTAGATTATGTCCCTGAGAAAAAATAATGGCTACCATTAGAAAAGGATACCGAAGACCTCATGACATTGAAATGCTG
GCTAGCGAAATTTACACATGGCTTTGCAATGACAACTAGC
>chr1:5575943-5576144
TGAGCCGAACATCTTCATCGACTTCTTGATGACGTGCATGGTCATGTGGCCAGGGTTGGCCTGCAGGAATGCACCAAAGG
CCGACCGCCGATGATCAGTACTTCGAACGGCTGGATCAGCGCTGCGATCTTGCCGTGGGAGAGCACGTAGCCGCCGAGC
ACGCTCGCAATACGACGATGATGCCGATAATTTTAGCCAT
>chr1:1916425-1916626
TCAGCCGGGACGGTCAACCCGAGTACGCCGTAGTTCCCTGGGAGCAATACCAGGCGTTGCTCAGCGCTGCAGGGCAGGCA
CCAGCCGAGGCGTTTCCAGTGAGGCGCAGGGCGTTGCTGCCAGTGGCCCTCTGCCAGCCTTCAGCGAAGTCGCCAGAT
TCGCCAGGCCAAGGGCATTGCCCGGAGCAACTGGCGCGCA
>chr1:5361030-5361231
GGGTCAAATCCAAACATTACCTACAAGAAAGCCCGCTAAAGCGGGCTCTCAAGCTTTAATTGGTACCGAGAAGGGGACT
CGAACCCCTACACCCTATGGGCACAACCACTCAAGGTTGCGTGTCTACCAATTCCACCACCTCGGCAATACTACTACTT
GAAACCCGTTACTTCTGCTCTTGAGCCGGAGGAGGTACATC
>chr1:850378-850579
GCACTGAGTGCCTACGAGATACTGCAAATCTTCCATTGCTCGCGCCTATTATATAGCTTCTGCCATGCACGAAGCATA
CCCTGCATTGGAATCGTTTTTAAGATAAGCTTAACAAAACCTGAAATATAAAAATGCTTCTTGTGGTGTGTACCAAGT
AAGTGTGCATCATTCCAGTTTCATTACCGCTGCTAAACC
>chr1:2846871-2847072
CCAGCACTTGACCGCCAGGAGGCTCGCACCTGGCTTGGTAGTTGGGGTACAGATGCTGAGGCAGAGTTACCCAAGTGCC
ACGACTGATCGTCACTGAAGGCGCGGCGAAGGGCCTGGAGCGTTGCCGGCGATTTCTCTCCGATAAAGATCCGCAGGTG
CACGCCGTGCTGCACAGGCAATCGAGCGCAATTCGCTCGA
>chr1:6156451-6156652
CATTGGAGACTGAACTGAAGGATGCAATAATGTCCGTATGGGATGGCTCGGATGCTCATGCCCGGGCGTTGATTAAGGTG
GTCCGGAGCCTGAAGGGGCTTGACGCGAACTCTGTGCGTCAATCCGTCCCGCTTTCTGCTCATGGAGGTGCGAATGCCGG
CCACTCAAATTGATCGAATCTTCGGGGCGCTGGAGTCAGCT
>chr1:2811344-2811545
TTTGCTCAAGGTCCCGTACCTTTTGGTTATAGGGGACCGCGAAGTCGAAACGCAAACCGTCGCTGTGCGTACTCGCGAAG
GCGCAGACCTGGGCTCCATGCCCGTCGCCCAATTCGTTGAGTTGCTGACACAAGCGTTTTCCCGCGTGGTCGCCAAGAA
TCGGAGTAATGACTATTAAGCGTGAAATGAGAAACGATAAG
>chr1:5383280-5383481
CATGCTCTCCACAAACCCCGGCAAATTTAGGGGGTGCCTATTCTCGCCGATCCAGGCCACGCAAACACCCATCAAGCC
GCGATTTTCCCAGCACATCAGATGCCCGCTCATCGGTACGCGACCAAAGTTTTGCACAGGACAAATTGACACACCCACGG
CAGCGCTTTTAACCTAGCGTCCAGCCATTGTAAATTGGTCT
>chr1:5260523-5260724
CAGGGTGTGGTGACCTGTTGCACGAGATGATCAAACGGGATGTCAAGAAAGGCCTGGCGACCTTGTGCATTGGTGGTG
GACAAGGGGTGGCGCTGGCCATCGAGCGCTGATTGATTCAAGCAGGCCCGGCTCTTCGCGGGTGAACCCGCTCCTACGC
TGATCTGTGGCGGACACATCGGTGATTGGGCGCACGCCG
>chr1:3579112-3579313
ATGATTGTTTGTGCTGCTTATGCTAGTAATATTGCCTCTGGCAGCGCTAGAATTCCTGAGTTGATGAAAGTTACTGCT
TGATTAGGGCTGAACGTGAAATGTTTGGTGGATAGTAATTTTCGGAATTTGCGGCGACAGTTTTCGCATCAATCTCGA
GCAACCTTATTTTCGCCGCTTGGGAGCTAAGCATTTGAAGT
>chr1:1777613-1777814
GCGCAGATCGAAGGCCGTCTGCAGGTTGAGCCAGAACTCAGGGGTGGTGTCCAGGCAGATGGACAGGCGCAGTGCCATGT
CGGCGGAAACACCGCCCCGTTTCGCGCAGGATGTTGTTGACGGTTGGCGTTGCTACACCCAACGCCCTGGCCAGAGCCGCG
GCGCTGAAGCCCATTTCTTCTGGAATCCTCCCGCAGGAT
>chr1:2034395-2034596
ACAATGCACTTCTGCTAATCGCTGCAATTGCCCTTACCGGATGCGCTGCGTCTCGGAAATGAAGACGGTGAGAGGTAAG
ACAGGCGTTACATCAACTGTTTCAAGCCTATCTTCGTCATGGGACCGCTGTTACCAGAGAGCTGAGATCTCCTGTAGTAC
ACGAGGATACCGCGTTGTAGCGCGGTCCGGTGATACCGAGG
>chr1:1745309-1745510
CGGCAGTTCCACAGTCGTACCGAATACGCGGTGCAGGAACTCGCGGTGGGCGCCGCCGCACTCATCGAGCGAGCTGG
TGTGTCGAACATCTCAGCCTCGTCGAGCAGGCTTCGGGCATCTTCTGCGTCCAGATCCCGGTACGCCGCTTTTGCACG
ATCACCTTCCGCGCTTTGTGCGCCAGCGCTTACGCGCTGAA

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1: 5237064-5237265
ATTCCGCAGTTGCCTGACCTTAGAGTCAAGAGGCGCAGAAATTCCAAGGGTCTCAAGGGCCTAGGCGCGTCTCCATGCGA
GCAAGCTGAATAAGGATTGAATCATGCAAATCCAGGTCAACAGCAGCAACGATTTTCGATGGTAACGCCCCGGCTCGACCAG
TGGGTCCGCAGCACACTGCAGAACTCGCTGGAACGTTACGA
>chr1: 1142224-1142425
GCTTGCGGTTGGCCAGGGTCTGGAACACGAAGGCCAGGGTCAGCATGCCGACTGCGGTGATCGCCCAGCCGATCAGTACG
GCCCCAACCCCTGCGCTGGCGGCCATGTTTTGTGGCAGCGAGAAGATACCGCCGCCAATCATCGAGCCGACGACAAGTGC
AACTAACGCGCCGAGCTTTAGTTTTCCGGATGAATCAGACA
>chr1: 3670881-3671082
TAGTCGAACAGTTCCCCGCCCGTCCCAAGGGTGCAGCTCTGGGTGCTGACGATAAATTGCCCGGCCACGCCAGGCAG
GGTCACGTAAGTGCATGGCCAGCACTCGGTTTCGACCGCTGAGCACACAGTACTGGCCAGCCATTGCCTCGCTGCATGACG
GGCTGCAAAGGGCCAGGCGCACGAATTGCTGGATGCCCAGG
>chr1: 161821-162022
GGAGTCCAGGCGAGCCAGTTGACGACGGCTGGTCATACGGCGCTGCCACAGCAGCAGGGTTCGACAATGCGCGCAGTGGCA
GCGAAGTGTGGATTGCTGGGCGTTGCTTTCAAAAACCAGACCGGAAGTGAAGGTACGTTCCATGATGCTTCATCCTTCC
GCTTATGGCGGCATTAGGTAGTGATTTAACTGATGCCAATG
>chr1: 397858-398059
GAAGGCTTTTCAAGATGGTTTTCAAAGCTCGGTGTATTCTTGCTGTTTTTTCGCTGCGCGTTTAGTGAGATTTTTTATAT
AGATGGCTAATGATCGCTTTTCTTTGAGAAGGTGGTTTTTGTGGCAGTCTGTTCTTCAGGTACGTTGATCGTTATG
TCTTTGTTAAAGGCAACAGTCTTTTTTTTCGCCAATGGTG
>chr1: 4799634-4799835
ATACCTATCACGTATCGCTCGGGGCGCCTTTGGTGATCTCTATCTGTACGGAGAAAATTCCGGTTTTTTCATTAGACATC
GTAGCCACACTTTCACAATACTGCGGCAGAGTGAATGAAGTTCATGCAGGCAACATTGACAAGGAGGTGCAAGGCTTCTT
TCTATTGATCGAACGGGAGTCCAGCGACTTTGGCGATTTAT
>chr1: 2720550-2720751
CCTGGACCCGAATGGCCTGCATGTGCTGATGGGCGTGCACAATCAGGTGAAGGAGGGTGACAAAGTGCCTCTGACCC
TGACCATCGAGGATGCCAAGGGCGCCAAGGAAACCCTGGAAGTTCAGGCACAAGTGCCTGCGCTCAACGCCGACGCGGGT
GGTGGGCATGATCACATGCACATGAACCACTGACAGATCAA
>chr1: 1316238-1316439
AAACGAATGGGGAGGCCAGCATGTTCTTCGACAACGTGGTTATCGCCGGTGTGGTAACGGTCGGGCTGATGGTCGCCTTC
TTTGCCGGTCTGGGCATTTTTCATCTGGAAGGACTCGAACAAGCGCAAGCCGCGCTGACCTTCCGGGTACACGAGCACGCA
AGGCATTTAGGGCGACTTCGGTGCCTTCATTTTTCGCTG
>chr1: 1513391-1513592
ACGCCGTCAGCCTCGATGCCAAGGGCCGTCTCGCCATGCCGAGTCGGTACCGTGACGAGCTCGACTCACGTTGCAATGGC
CAACTGATCGTGACCATTCAGCGCCGTAGACCCCTGCTTGTGTGTTTATCCCTTCGATGAGTGGGAACAGATAGAAGCCAA
GTTGCGTGCCTTGCCATCGTTGCGTGAGGAAAACCGCCGCC
>chr1: 2202170-2202371
TGCGCCTAGTTCTCGCCATTGCTTGTAAGGCTAGGCGCACTATAAGTTTTATTTGATCTGAAATTTGGTTTTGTGATTT
TTACCTGTGGGTATTTATTGCACGCTGTCTGCCGCTACTTTTTGCCACTGCAATAAATGGAGAGTTCAATTGAACAATC
AAGATTTGGTTAAGGTGCTTGAAACGCCCTTTGAAGTTAAAT
>chr1: 623625-623826
TTGGTAGCCACCTCATGATGATAGGCGTGCAGCTCTTTCAATAAGGCGTTTCATGCTAAGTCCTCATCACTACATCAAACC
GTTACAGATTAATAATAAGTAATAAGCAATCTCCAAGGATGGCCGACGTGTGAGCGCACATCTGATCGTTTTATTATAG
TCTGGCGCGAAACGCTCACCTTCAGAAAAAACCTCCATTG
>chr1: 4013336-4013537
TTTTTGGAGTCGACACGCTTTTTCAGGGGTTCCGCCCGCGGTCTGGCACAGAACAAATAAACTACCTCAAGGTAGGGGCAG
CCAGGTTCCGATCAGCAATGATGAAAGCAGGTGAGCGCTCAAAAAAATACGTTTGCTCTTGACCCCGCCTGGGGGTGCGC
CGCAACACCAGGACAAGCCGACAAAAACAATAAGGCCG
>chr1: 3342409-3342610
GCGGAGGCGGCTCGCGCACAGCACAGTACAGTGCTTTAGTCGTGCTAGTGGTAGCGGCATTGCAGAACGGTGAGCATACC
GGCCTCGAAGAAGTAGACCAGGCGGTGCTCACGGGTGATGCGGCGGGACCACAAGCCAGATAAATCGCCTTTCAGCGGCT
CAGGCTTGCCAATACCGTGAAGGGGGTGGTAGGCACAG
>chr1: 3741837-3742038
AACAGTGTTAGCACAAACAGCGAAAAAGGAAAGCCAAAGCCAGAGGTCAGTACCAAGAACGTCTTGTTAGAGATACGTACT
AAGGGCAGACATGAGCCCTCCTGTATAGTCGTAGTTGAACAACATGACTCCGACATGGCGGTATAACCGTCAGAGGGG
CCCGGCGTCACGAATAAAGAATTTATCGAGCGCAGTAGGC
>chr1: 1477293-1477494
TCTGCGCGTAACAGACCACGCCGTGTGGCTTCGACATAAGGTGACCGAGTATGGATGACCAAGGACGCAACCCCTTCCTC
CAGCAAGCCAATCCTGTATGTGCTCGATACCAACGTCTGATTACGACCCCTAACGCGTTACTGAACTTCGAGGAGCACC
ATGTCGCCATCCCGATGACGGTGCTGGAGGAACTCGACAAG
>chr1: 5564492-5564693
TGTAAGCAATGCCCTTTTGACATATGCCGCACTCCTGTAAGGATAAATAATAGAAAATCAATAAAATCGATAAATTAGGC
CGCCCTTCGCAAGAATAGACGGCAATCAGCAGGGACTCAGCTCAATATGGAGATGGCCCCAAGGTATTTCAAGGTGCGG
GACAGATTGTGCGAGGCCAGGCTGTCAAGCCAGTGCACTTC
>chr1: 2886809-2887010
TTTTGATGGTCAATAGCATCAAGGTGAGCCTTTTACGTCACATGCTAGCAATTCTGTACGTTTCGTTGCCGATTGTTTA
TGTACAAAGAATAGAGCGTGAACGTTAGCTCGCAGAATCGAAGATGCACCGTTGCTTGCAGGGTAGTGGTGATCTCATC
ATTGCTATATAGATATAACATTTACGCGCTCCATTCCTTTG

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1: 4559966-4560167
ACCATCTCCAGCTCAACATCTCAACATTTACATATTCGGGACGCTCAACTTCAAGAATAGACTCGGCTCGGCGCTCAACA
TAGTTTTCTTTCCAAAAAGCAACACTATCAAGATAGGCTGCCTCCTGCAAAAAAGGCTCACGTTTGACCTGTTCAAATTC
TGTCATTACACACCCCTAATGAATTACATTACCGACAAATT
>chr1: 6016084-6016285
CTTTTTATAGCCAGGATCGAGCCCGCTCAACAATGATTTAACATGCTCTTTCTGAGTACCATGCACCATCCTCAATACAT
AGCCATCCGGCACACTTTTCGGCGATTTGACCACCTTGATCTTTGTATCGGAAGGTATATCACTGTAGGTCTTGGAATT
ACTTCGTTTTCAAAAAAATCGCCCGTGCAACTTCCCAGA
>chr1: 4538471-4538672
GAACTGTAAACATATAACACCTCTTATCAACGGAAATATCTAAATGCAAAGCAACGTTATTTCTTACAATATACCTGTT
ATGGCGCCTCAGCTATGCCAGGGAATATTTACGCACTGGGTTTCACGGGCGCACCTCGCGACATATGGACAGGCTGCTAC
CTACTGGGAAACGGCAAGCGTACTTATAACCCGAATTTGAT
>chr1: 1750531-1750732
AGTAGTGGGGCGTCCAGCTGTTTACGGCATCCAGTAGCCAAACAATGGACGAAAAAAAACCGCTGGCAGGGCGGCTTTTC
TCTACAGCATTAGAACGGTTAAAGCATGACAAACATCGTCCCACTTGACAAGTCCAGGGGGTTACCCGGATGGACAAC
CAGCTCATGGATGGCTGCTGGCTATCGATCTCCCGGCCG
>chr1: 2063619-2063820
CTGGTGGAGGGCCTACCTGTTCTGTGGGTTGGCGCCGCTCAATAATTCGCGTCTTGATCAGCTCGAACTGCCCGGCCG
TTGCCGGCAGGTGCGTAGTGACGGAAAGTCTATCCATTGCTTTATTCAGGAGGACGATTCATGAGCAGCCAGAACGACG
ATATCAGCAGCAACGTCTCGCCAGATGAAGGCAGGCGGT
>chr1: 4152597-4152798
GCTTGAAGTCAAATGCCAGGTAGTTGTAGTGATCCGCTCAACCGGGGCATAGCCAGTGGCTGTGAGTGATTGAAATCG
GTGGAATTACGCTGCTTCACTGCGTTGATTCTTGTGCGCGTTACCGTCAATTTATCGATATCGTTGACGGTCAGCGAACC
ACCGCGAAAGACCTGAGGCAGCAAGCGGCTGTTATTACTCC
>chr1: 2030854-2031055
CCATGGGGGATGCGCTGGCAGTGGCTCTGATTACCGCAATCAGTTCAAACCGATGGACTTTGCCGTTACCATCCCGGC
GGAAGCCTTGGTCGAAAATTGTTGACTCGCGTAGCTGACGTAATGCACTCGCCGGCACCGATTGTTTCGCCAGCGAGCAG
TTTTCAAGACTGCCTGCTGATGATGACGCAAAGCCGGCTTG
>chr1: 2124270-2124471
CCCTACAACATGTCAAACACCAACTGTAAGAATGATACGATTAGCTACTTCAAATTCATAATGTACCCTCAACGACAAC
GGTGACGTTTAAGTCCGATGGCTGCAACGATAGTAATGACTGGAGGTTTGTGTTAAAACAACAAAACAACCGACTA
CCACGGTTGGATGAGTATCGAAGAGCTCAATGCGCATCGT
>chr1: 1718805-1719006
AATGGAGTCTAACTCTCTAGTGTGCAAGGAAAGAATCTATAAGCGTAATGGGGCTGATCGTATCATACCAGAGAGTAGAG
CAGGGGTTGGAGAGGATGTTTCATTTGAGTCATTATTCAATTCGCACGAAATCGCTGAGCAGCATCGTTTGTTTGCGCAG
TTTAACGCACCTGCGAGAACATCTCAGAAAGCAAGAAAGT
>chr1: 1242404-1242605
GACCAGCTCGTTTCCGAGGATCTTGTTGAGATGCTGGATGACGTTACGTCGCTTTTCATGTGCGGTTCTGCCCTGTAG
AAGTGTGTCAATCCACTGAAGTTTGAGCCCGATACTTAGGTGTGTCAAACCTAAGTTCTTGAATACTAAGTGAAATTA
TAGGAATAAGAATGTTTGTGAACCGCGTTGCAACGCTAACT
>chr1: 3838723-3838924
AACTATTACAATCTCGCTGGCGGAAGCAGGAACAGCCATTGCAATCGCAAAACCTCTTTTTGACCATCTATCTCAGAATG
CAAAAACAAAACCTTGAGAATGATGACAACATCCATGGGCGCGCTCGCCAACAACTGGGAACACAAGCTGCTCGCCTA
CTGCTTGACGTTTTAGTATTAGGTGCATTTTGATCGGAGT
>chr1: 4535163-4535364
CAGTGTTATTAaaaaaagaactgaaaaccctttctgacacaggtaaagccctgaaccaatttcacccgacttaattggagaaca
aacttatcagcatagacaaacagggacaactgaagtacaagctaattggacgactttgagagcttacgattttcaaactctg
gaggacgaagtgatgaaaaatgacaagacattgaacagctt
>chr1: 3537484-3537685
AGGAAGTTCGAGGCCATCGCGGCAGCAGTGCGCCGTGAAGCGGAGCGAGAGTTGGTGTGTTGTTCTCATTAGTGCTCTT
TGTCGGGCCATTTGGCCGGAGGGACCCTCATGGTGCCTTCAATGTTTGCCGCTTTCTGCATGCTGACGGTGTGGTCTGGT
GCCGTAACGCCGACCAGAGCAGTGTGCCTACCTGCTCAG
>chr1: 1827283-1827484
ATCGCCCTGGGCATCGCGGTCTGCCAAAAGGCCGTATCGTCGAGATCTACGGCCCGGAATCGTCGGGTAAGACCAGCT
GACCTGTCTGTATCGCTGAAGCGCAAAAGAACGGTGCTACCTGCGCCTTCGTGACGCCGAACATGCCCTTGACCCTG
AGTACGCCGGCAAGCTGGGCGTCAACGTCGATGACCTGCTG
>chr1: 744531-744732
CATGCCTGGATTCATGAATAAGAGATCGTGGGGTGGGATAGTTTATCGGCGTGGAAAGCAAATCCAAATTGCTAGTTTTTC
TCCCCGATGAAGAGAAGGGTAGAAGAATTAGTGTGCTTGGGGTTTCAAAGGGGATGATTTGGCGTTTGGTCTGGTTGGC
TGTAAGGAACGACTTGTATCTGGTGGATCAAGTTACTAG
>chr1: 2728037-2728238
CATGGTGTGACCATGTTTACGCGCGAGCTCCAGCGCATCCAGGCGATAGCAATTTCCATATCCCGTAAACATGATTTCCC
CAGGCGTTGATTTAAGTGAACGTTCCAGTCACATGCAGGCAGGATCTTGTTATGTTTGTTATTTACCGGCATTTTCCGA
GACGCTCTTGCTGTTGTAACGCGTGGAGTTATGACCTAC
>chr1: 4644465-4644666
ATCGGGCCGTAAATAGTTCAGGCCGTTCTCCAGGGTTACGCAAATGTGCGTGGCCGGTTTCTCAGGGGCCGCGAGCGTACC
GACGAAATGCACCTTTTCAGGGTTTCGGTACCGCTTCCAGGCCACGCACATCTTGGGGTTTCCGAAGCCTCGGTAT
CTCCGCCACGGTCTTCGGCGCTGATGGTCACAGTGGCGATG

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1: 5912541-5912742
CGGAGATAGCCCTTTACCCGGGAAATAGCGGATAATGGATTGCCCGATATGCAGCAAATCTGCCGTAGATGTGCCATTT
CAGGGCATCATGGGGTCGGCTTGACATCAGTATCTCTTTTCGATTGACTGGTCTTGCAAGCCCCCTTGATTGATATTTT
TAACAACAAAGGTGTTGCATCATGTCCGTACCCCCGCGTGC
>chr1: 2618619-2618820
TTTGCTCTCTATTGACTCTCGCGGAGGAAATGGCTGGAATGTAGAAATGAGGCACAATATATCGACTGCTGCCAATGTCT
TGTAAGAGTCCAGCGCACTGCCGAATTTAGTGTCAAGTAAATCGCCATGAGTTACGCCATTGCGATTAGTGTGCCGTTG
GTCACATATTTGTCGGAGTCGCTATAGAATTTTGGAGGAA
>chr1: 3074248-3074449
CGGGCTTTTTTACCTCTGACAATGGAGTAACGCCATGTCCAACCGAGGCTCAACGGTTGAGCCACTGTGTGCAATTGAGT
AACCTTTTGCTGTTTCAATTAACGATATGAATTTGGTCTTCCCGGTGCGATCAAGTCGTACGCATGCTTGTGCAAGGCC
ATCTAGCGCTAATGCATTACGTGGAGAATTCGACGTGGAGT
>chr1: 2132867-2133068
GTTGTTTAAATGTCAAGGCGGCATGACTGTTTACCGAGAGGGTAAGCATCAATAAGGTGAGGCAGACGCAAAACAACGACGC
GGGCGGGTATCGTGAATGTTGACGGATTGGTTCATCGGGTAACTCGCTGCATCCAGACGCACAACCTACGCCTGGATGGTTT
AACCGTGCAAGGACTGCACAGAATTTATGCGTAATTATTGA
>chr1: 5079782-5079983
GGCGGTGAAGGGGGGATTGCAACCCCCGATACCCTTATGAGGTATACTCCCTTAGCAGGGGAGCGCCTTCGGCCACTCGG
CCACCTCACCAGCAACACGAGGCGAATATTAAGAACCTCTTTCACCTTTGCAACCCTTTTTTGAACCAACTTCAAAAA
AATTAAAGGCTTGGCTCTTTCCTTCTCTTCTTGATCCG
>chr1: 5828421-5828622
GCAGGTTGAAGAACAGCTTGCCTGAGCCTTGGTGGTAGCCACCTTGACGATGCGCCAGTTGCGCAGAATGAACTCGTGG
ATCTCTGCCTTGATCCAGTGCACGGCGAACGACACAGGCGCACGCCATTTCCGGGTTGAAGCGCTTGACGGCTTTTCAT
CAGGCCGACGTTGCCTTCTGGATCAGGTCAGCCTGGGCCA
>chr1: 3581566-3581767
GCACCCAAATGACGTACAGCGACTAAAGCGAGCTGCTGGCTGGTTCCAAAGCAGAGCGAATCGTTTTAACCTGGCTGTAA
AGCACTTTGAGAAGGAACGTCTCCCGGTGGATGCCAAGCAGCCCGGAGACATTGCAGGAGGTGTTAAGTATCAAACAA
TGGGTTGATCGACACCTGGTAGCTGCAAAAGGATTTTTAGA
>chr1: 1818638-1818839
GTTGACCGTTGTACCCAGCCTGTTCTGTGATGTAGAGGGGACAGGCTCAAGCGCTGCCAGGGAGAAAGGTGCCGCTCGA
GTCTGAGTTGAACTCAGCAAAGGATTATAACAATGGCTCTCAGTAAAGAAGTGCCGGAGTTTGACATCGACGATGACGT
CCTCCTGATGGAGACGGGTATCGTTTTGGAAACGGATGTGG
>chr1: 194265-194466
TCAGGAAACGCTTGCTAAGGTACAAATATCAATGTGACATTACATTGCCGATTGTTTAGGATGGCATGTATAAGGTCAA
TAGTTTGGCAGTCAGGCAATTCCAAAAAGTTATAGACGGAATATTGACGTCAAAAACGTCAAGAGATCATCGACATAGTT
CCGCTGAAGTGGCTAGCAAGCGCGCTCTGGCAGGGAAGT
>chr1: 2591660-2591861
CGTGCGCCACCTGCCCTGTGAAACTGTGGTTCAAGTGATGCCAACTCTATCTATACCGACAACCACCAATATTGCTTCG
CCTGTGAGCACTACGTTACGGTGATGGCGAAACCCCACTACTGGAGGGCGAACAAAACGAATGGAAGGTTAATCTCC
GGCGAATTCAAGCCGCTGATGAAGCGCAAACCTTACCCTGGA
>chr1: 5195841-5196042
TCACCACCCATGGCCAGGAATTCGCTGCGCGAAACCGGCACGAAGCGCACCCGGTCACCGGGTTGCAAGAGGCTGTAACC
CTACGCTCACGGTCGAACAACCGCACCGGGGTGCGCCGATCAGGTTCCAGCCACCCGGCGATACTGCCGGGTAGGCCG
CCGCTGGCGCTCGGCAATACCCACGCTGCCCGCCGCCACG
>chr1: 2044441-2044642
TTTTTATTGTGTGAGGGGTGTTTAAAAAATCTCAATACCCCACTTTTGGCGCAAATTTAATGGCGTCAATAGTGTTTCG
ATAAAGTGTGGATTGGAATAAATGAATGTTTTACTTGCGTCGATTTAATATGGGCAGGTGCCGTGCGAGGTTGAGGGACG
GGCTATCATTGATGGCCTAGTGATATCTTTACAGCTGGCA
>chr1: 1957238-1957439
GGCTGAAACGGCGTTATTGACGGGGATCGATCTGTACAGGGATGAAGAAACGCAAGCCATGGCGCGAATGATGCAGACGA
TGGAGTTTCATTCTCGGTATGAAAACATTGCATTGATGCCAGACATCTGTAAGCGATACCACGGCATCCAGTTGAGTGCT
CAATGGACATTTGAAATTGGTTATACCCACTATGCGGTCCG
>chr1: 1449791-1449992
CGATATCGTGTGCCAGGAAATCCAGAAATTTGCCAGTACCGGATCGTCTCGGTTGCCTCTGCGCGGGTGAGTATCACC
CCACCGTCGGGGCGAATCGAGTAATGGATCTTGTCACGTTTTTCAAGCCCAAGGCGCGCCGACCGTTTTCGGGAACAGT
GGTTTGATAGCGATCGGTCAGCGTGGACTCGACGTGCAAGG
>chr1: 3542649-3542850
CGGCGGCGAGCAGGTGCTTGACCATGTGCGAGCCAATGTAGCCCGCACCCACCAACAGATATTTTCATCCCCACCTCC
TGGAATCTGCTGTTTACAGACGCAGTGAACACTCCCTGACACGTGCAGGTGGGATGATCAGCTACAGGTGACCTGAGCGT
AGATGGCCATATGCTCTATTTCAAGAATAGCCAATTGGACA
>chr1: 5110811-5111012
CCGCCGGAGCGGGTCAACCAGGCGTGATCAAGAGTGCGCGGTACGCAAGAGGGTCACAGGTAAAACGCGGCGCACTGTAT
ACCCCTGCAAACGCGCAGGCGTCAACGCGTTGCATCGTTTTCTCGGGAAAAAACGCAGCGTTCTGTGGTACAGGCCTTC
AAAGGCGAAGTGATCGGCGTACATGGCGCTCCATTTGTTG
>chr1: 4008343-4008544
TAGAGTACTTGCCCTTTTTCAGTTGAGCTTGAGACGCGAAGATACCCCCCCCACCTTTTCATCTGCGGACCAACCGTCGAC
CACTTCGAACTTTAGTAAAGGCTGGGCTTTCAGTTTCATCGGCCATATTGATACCCAAAGTACCGTCGCGCCTGATTAAAC
CGAAGCGGTGCGGACTTAAGGAGGGAGAATACCGAAAATCC

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1: 4111262-4111463
CTTAAGGAATCCATGGGTACACAGACTCTGTCTTCATGGGAAAGCTGTATTGCGCGATAACTGTTCTGTCAATTGCCGGCT
TTTACCCATATTTACTATCCAGGGATATATGGCGCATGTACGAAACCGCTCCATTATTAGCGACTGGATTCTTGCTTATG
CCTTTCACTTTCCTACCTTTCTCATTTATCGAATATATTT
>chr1: 5537602-5537803
TGCGAGACTGCCTGAAACCGTTCAGCCCCTTGCTGATATGGGTCAAGGGGGCGTCAAGAGGCCAGCCAGTAGAATTGTTC
AATGGATTGTATACAACAAATCTAAGGGCACATCATGCCCTTTTATTGGACGATGAGACAACCTCTCATTTAGGAGCAAT
ACCAAATGCCCATCTCCAACCTTCTCAATAGCCTGCTCGCC
>chr1: 2780869-2781070
TACCACCATGCGCTTGCTTCGCATCGAACTGCCCCGACACGGTTTTCCAGGCGCAGTTGCCCGCTTTGCAGCCCGGCTGGT
CTGCTCAGCCTGAGTTGACCCGAACGCTGGGCAATCGCTTTCTGGATGACTGTTCCGCATTGCTGCTGCCGGTGCCAAGC
GCGATCATGCCAGCACCACCAATTACCTGTTCAACCCACG
>chr1: 2640578-2640779
GGTGGTGACAAAGGCCACTGCGTTGACGGCCGAGAATTTGTACTTCAGGGAAACATTGCTAAGCCAGGCACCCATGGGCA
GGTCTTCTCTGAGTTGAGCGGAAACAATATTGGCAAGGTGCCATCATTGTGCCACATCCACCTGGACATGTGTTGATGC
ATATCAACTGTGTTCAACCGCCCCGCAACAACACGCGAGAC
>chr1: 4564063-4564264
GAACGATGGGTTTAAATATAAATGGAGATTCCGCAGGCAATTTCTACAGCATGAACTTACAACCTTTTTATCATACGATCC
GTTTGCTGACTGCCGACCCTGTAACCTCAGATAATTATTCGAGCCAACTTTTTGAACCGCTTGATACTCGCCCTGTG
CAGGGTGTGCGACCGATATAGGATTGGGCACATCCGGACAT
>chr1: 673506-673707
GATCTGGACACGATCAACTCCCTGTTCTTATACGCCCTGCTCCCGTGCCAGACGCTCTGACAGCTTAAAAGTAGTCGCAC
TCAGCGAATATGTACAAGGTCTGTACAAGTCATCGGACTACTGGAAGGGTTATTGGATCCATACGGCCGTTAGAAGAAAA
CCTGATAACACATAGGGGACGAACGCCTGCTTGTCGCCCCAT
>chr1: 3764871-3765072
GGTTGTAAAAGGCTGCTGATTATCCAGGCTTTATACTCGGGAAAGAAATTGAGAAGTGCCCCACTACAACCCCCGAGCAC
AAGACCTGCAATAATTCTAGTCACCAGACTAGTCTTTGCCATACGTCTCCAGTTATTATAATTTGGACTGTACATTGGC
CGGCAAAAATGCCAAACACATCGTTGGAGCCTGTTATTTTT
>chr1: 5144651-5144852
ATGATGCGTATCACCTACCCCGCCTCTCCGTGTACACGACGACACCTATCAGCGCCTTTAGCCATCCTAGGCTGACCCA
ACGTTCTTCAGCACATTCACATCCTCATCAGCCGGATCAGCATGGGATGGTTGAACATGTGAGGAACGTGGCAAAGT
CGATGCCGTGCTTGCGGATATTGCTCTGGTTTTTCCCTTCG
>chr1: 1123603-1123804
AGCCGTAACCTTTTTTCGTCATTGAACCACTTGACGGTACCCTTCTGACGCTCAGCCATTGTCTTATTTTCTATGAACTT
AAATTTTGATGACAGTTACTTTTCGCACTTTTTTGTAAGCGAAAGATTACTGGGCTGGGTTGCAGGAAGTAAGAGACGTG
AACGGGTTGTAGCAAATCTCGGCTACTGGCCCAGGTCACGA
>chr1: 1044461-1044662
CGCAGCCTGTTGCACCTTTTTGGTCGGCCGACCGTGTGCGTGAACCTCGATGCGCTGAACAGTTTCGAGCAGTTGGGCGT
GCGTGTACCGCGCATCGTCTTCTGTGGCGCGCAGCGGATGCCGAGCACCAGTGCGCGCGCTGCTGGTCAGCGAAGCGC
TGGACGTTTTGTGCAACTCGACACCTGGCATGCCGAAGGT
>chr1: 6020596-6020797
TGGCGGTTCCGATTACACCGCTACCAAGTACCAGAAGTTCGCATCGTTTTATCCCTCACACGCGGCGCGCCGCACACTTTT
ATTGAAATGGCATGAATGGGCGCAGTATAGGAATTTGAGACCAGTGAATTCATATATAAAAGCCTATTATTGGCGAGA
ATTCTCGGCAAAATCGCCTTTCACGGAGGGGCATCCCCTAT
>chr1: 243571-243772
CCGCCCCCTCGGCGCCATAGGCTTGCGCTGAAGGAATTACCAGGCGCCATTTGGCGCCGGTGTGCATTTTCGGCAAGGCG
ACCTGCCAGCCTTCGATAACCGAATCCAGGTTGAACCATTTGGGGGTCTGTTCTGGTGAATATTGAGCCGTCCGGCAA
TCTGCCACATAGCGCACTTGCACTTTGCCGCCCGCTTTTG
>chr1: 2650285-2650486
TCAGCCTTACGGTAGGCTTCGTGACGACGAGCTTGAGCGCGAGCTGCTGCGTCTTCAGTCGCAGTCAGACGAGCTTCGGT
TTCTTTGGATACGCTGCTGCAACCGGTAGCCAGAAGTTCGGCCAGAGCCAGAGCAGAGAATTTCAGAACGTTGTTTCATCG
TGTTCCCTTCAAGGACTTTCTATTAAATAGCCATCTCTCA
>chr1: 2388552-2388753
CGGTGACCCCGTATTGGTAGCCACGTGAATATGCTCTTTCCAACGGATCAGCTTAAGTCTTCTCATAGGGTGTGTCCT
CACTTGTTGACTGTAATGTGCCGTGCGCCTCTCCGAGGCCGGGCAGAGTCGTTCTGCCGGTTTTCGCTCGCTGCCGGCGT
GGCGAGCTGAAAGTGCCGCCTCGTTGCGAAGCGGCCTGAGA
>chr1: 5140387-5140588
CGGGTGAAGCGGCCTTTGTGCTTAATCAGCGCCGACGCGGTTGACGTTTTCGCTGCTCTTCATCAGTCGGGATCGGCACC
GGCTGCAAGGGTGGTGGGATCAGCCCCAAGGCGACAGCCAGGTCATGGAGCCAGTTTGACAGTGGTTTATTACATAATGCC
CCCTTGACGGGTCAGCCTCAGGCAATCAATCCTGCGATG
>chr1: 6040286-6040487
AAAGTCAGTATTGCCAGCCTGCTGCTGCCTTCGGGCATGAACGGCGACGAAGACTTGAATCAGAAATTCAGTTGATGGA
CGACTTCGCCAAGTACCTGGACAAGCAGCGTCGCAAGCGTCGCGAATACATCTATTGCGGCTCGTTCTACGTGGCGCAGC
AGAAGCTCGACATCAAGAATTGGCGTGACAGCCAGCAGTCG
>chr1: 2361222-2361423
GCAAAGCGAAAGCTGCTGCGTTTGACCACTTTTTCCAAAGCGTCGTCTTCAAATATGTAAATAATCAATGTGAGGACCAA
GCCAATCCAGAACGCCCCAAGAACGAGGCGGGTAAGTAATAACCGAGCAGCCTGCGTTCCGAGCTTTTTTGCAAGTGCTC
CCAATGAGGTGGATAGCATCCTGACGAGCTTGGTCTTGCA

Anexo 4. Documento fasta100 con las 100 pb circundantes al summit de los 117 picos del ChIP-seq.txt

>chr1: 1684657-1684858
CGAGTAAGCTTTCTGAGGTTCCCTTCCGAGTTTTTCGCAAGTCTCGATGTAGTCATCGACAGCTTCTTCGAATGCTCGAC
GGAGCTCACTGATTGATTACCGTGAAAGCCGATCACGTACGGATGCCGGCAACATGACCGATCAGTAACTGGTCTTCA
TCGCTGTAATCAATGCGTGCGGCATAGCCGCGGTAGGTCAT
>chr1: 3202945-3203146
GTTCAAGTGTGGCAGTGGTAGACCTTTAGGTGGCGCACTATTAAGGCATCTTTTGGTAACACATGTTTCCTTACTTCCC
AATAATGTGCAGGCGCCAGGCACGCATTAGTCGATAAATAAATTCAACTCGCTGATTTCTCTAGCGTAATCCGCCTATGA
CGCATTCTGGCATGTGGCTTGCGTGTGATCACATGACATG
>chr1: 454564-454765
CATTGAAGTAATAGCGCCCATACCCGCATGACGAAATGCGTATGGCCATTTTGTGATCTTTGATTGGTGCTCCGTGCGC
GTCTTTTTTTCATCATGGCGGCCATTGTCAATTTACAATAGCCGCCGCCCTGATAGCGCATCCATACAGGTTCAAGGGCG
GCGCGAATACCGCGACGTTAGGGCCAGAACCAAGACACGTC
>chr1: 1269543-1269744
GCCAACAAGGCGGCACCTTTAGCGTCTGTGCAGACCAGACAAGTGGATATCAAGCCCATGCACCCAATGGACATGCAAT
CAGCCGTCATTGCCAGGCTTCCCTGTCCCTGACGAAGTGGAGTCATTCAAAGTTGTAAAGAATCTTGTGACCTCGGCTTTA
TTGGAGTGTGTTCAATCGTCGAGTTCGAAGCACTGAAAGA
>chr1: 2532018-2532219
GCTTGTCTTCTAGCAGGCTCACGCCATTGGTTGCGTTTTCTGGCGAGTGATTTCAAGGCATCACGCTTCCCAAGCCGGGAA
TGAGCCAAACGCCTTCGGTTGAAGGCGATTCTGGCAAACAGAGTAAAGATTCTGCGCGCTGCATCGTCAGCGAGCACA
GACATTTTCGCATATCGCTTTTACTCTTTTGCCTATCGA
>chr1: 3401965-3402166
CGCCCCGAACCCTATATAGCAAACAACTGATGCCCTGTTGTAGTTGAGCAGTAACATGGGCAGGACAAAAACCAAAAA
AGGGGCAAGGCTGCTTGGCAACATTTCCAGTTTTTCGATGGGGCTGCAGGAGCGTGTGCGGTGAAAAACTCAAGATCGCTG
GCAGGTGCAATACTGGTAATCGGGGACGCTCGTTGTTCTG
>chr1: 4484690-4484891
AATCGGAGCCCCAAAAACGCAAAAAGCCCTGAATAATCAGGGCTTTGAATATGGCGGAAGCGTAGAGATTCAAACCTTA
TCCTAGGCTCCTACCTACAGACTTAATTTCTGATCGGTAGCTCGACGTCCTTTATGGAAGTGAAGCTAGCAAAACCGGGT
CTTCCGCGCAAGCTTCAGGATTTCCGCAAGCGTGCAGTCGA
>chr1: 4601919-4602120
ATGCCCTGCGTTAACCAGCCCTCGCAACAGCGGAAAAGAGGCTAGTACATAAACTCAATTCTATTCAATAATTTATTT
TGTTACATATTTGAACTCGACGCTCAACGATTATCCAGCGCATGTTTTTACGCAACGAATAACTCAAATCCCAAGAATC
ATGCTTATTAACGTTTAAACGCGCAAGCTTACTTGATAGGAA
>chr1: 4491887-4492088
ATCTTTGCTAGCTCTGTGCTGGGGCGTTACTTAGGAGCCCCACAGCCACAAAGTTCTCGGTGCGCACCTCATGATAGCAA
CGCGCCAGAACTGTATCGCTCGGGAGCTTGATGCTCAGTCGATTGTGTATTGTGAGCCTAATACCCGCCACAGCAACCT
CAGTCATGATCCGTTGGTTACATATACATCCAAGGCGAACT
>chr1: 2808653-2808854
CTCTTGAAGCCGTACGATTTCGATGGCTTTGAAGTGTACGAACAGGTCGTCGCCGCCGCTGCTGGGGTGATGAAGCCGTA
GCCTTTCTCATCATTGAACATTTGACGGTGCCTTGTGGCGATTGGACATGGGTGAATCTCCAGAACATTTAGTTTTTT
CAGTGGTGCAATGCGGCCGAGGCTACGGAGCACGGGATACA
>chr1: 3226726-3226927
GACTGTTCTACAATAAATCACGATATGGACTACATATAAGTCCGTAGTTTTTCGGGATGTCAGAAATATCCCGGCAAATA
ATCAGCCTTGAACGCTTTTGCCTTGCGAGTCACTGTGAAGTACACGGATGCTGAATGGTTTTTTTACCCTGAAGTGTAT
CTTCAATTCGCGCTGCCTCCCTCTCGATAATGGCCCAATGA
>chr1: 3533387-3533588
GGTACTGGCCGGTGGTTTTCGGCCTGTGCGGCATCCCGGAAAACCTTATCAGCGAAATCAAGCGGCGCGGCGTCAAGGGCC
TGACCGTGGTTTTCCAACAAGTGCAGGCGTGGACGGTTTTGGTCTGGGCGTGTGCTGGAAGACCGGCAGATTTCGAAGATG
ATCGCTCCTACGTGGGCGAAAACGCCGAGTTCGAACGCCA
>chr1: 4866612-4866813
AGGCGGTTTTATTTGACCTTTAGACAGCCACGCGCTCGGCGCGATCTATGCTTGTAAATAGAGGCAGTGTGTGCGGCTGGG
CATGGACATGTGCATTTTCTTGACCTTGAGTCAGAAAAATATTGACCTGCTAGACAGGCTTTGCTTAGAGTCCGCCCAA
CAACAATAAAACCATTCGAGGCCCTCCCGTGATCCAGTT
>chr1: 3001045-3001246
TTATTGTCTCGGTCTTGTAGGAAGATTCTACATATGTTCAAGTGGGTTGGATTATTTGTCCAATTTCTATAAAAACCATG
CACGCAAGAGTGGTCTTTGGTCGAGCATTAAGATGTAAAGAAATATTTGTTTGTGTGATTGCGTACTGTGTAATAGGCT
TCTGCTGGAGTTGTTTTAATTGGTCGCGCGGGCGCATGGGT
>chr1: 6180379-6180580
GCAGAGCAACAGCGATAGCGGTACAGCAACTACAGTTTCCATCTTTTCTCCGACTTTTACGTCGTATTGGTTAGGTTT
TTAGTTTGAAGCGGTAAACAAATCGTTTGGTACAGCATGCCCTTGCAGACTTTTAAAGCCCTCCCCCGTACAGGCAGG
GAAGGCTATCAGACACGCCAGGCGTCTTAATGGTTATCTT

chr	start	end		IGB	length	abs_summit	pileup	X.log10.pvalue.
AE015451.1	2817863	2818331	PP2473 hyp large intergenic	no	469	2818096	5347	3483,2063
AE015451.1	3674484	3674966	PP3238 PyrE transcriptional regulator PP3239 Tn resolution prc	no	483	3674741	5522	3403,65015
AE015451.1	3379892	3380511	PP2981 PP2982 Tn cointegrate resolution T protein	no	620	3380290	3378	1716,21631
AE015451.1	5389890	5390523	PP4739 hyp	no	634	5390155	2515	1390,51892
AE015451.1	532271	532795	PP0440 tufU Translation elongation Tu	no	525	532544	3546	1280,63855
AE015451.1	5338232	5338730	PP4696.1 crcZ	yes	499	5338497	3075	709,71228
AE015451.1	1256779	1257384	PP1099 cold shock	no	606	1257106	1148	474,47287
AE015451.1	3458592	3459075	PP3074 membrane protein putative	no	484	3458885	1131	461,39481
AE015451.1	450612	451057	PP0370 acyl CoA DH-71 Lys R	no	446	450855	1064	410,94696
AE015451.1	288025	288620	PP0233 taurine transporter oprE PP0234	no	596	288330	1035	389,67194
AE015451.1	472603	473279	PP0387 rpoD	no	677	472971	1022	375,93317
AE015451.1	5096612	5097204	PP4486 ABC basic aminoacid transporter	no	593	5097009	1078	358,70718
AE015451.1	2808297	2808994	PP2464 hyp PP2463 cold shock	yes	698	2808713	1097	329,29294
AE015451.1	5797828	5798368	PP5076 gltB glutamate synthetase	no	541	5798045	923	310,90695
AE015451.1	1529985	1530456	PP1343 lpxC acetilglucosamina deacetilasa	no	472	1530183	838	255,02985
AE015451.1	5076524	5077179	PP4470 algZ PP4469 guanilato kinasa	yes	656	5076722	1420	253,46027
AE015451.1	4113147	4113837	PP3619 hyp	yes	691	4113577	921	251,79503
AE015451.1	4405225	4405701	prophage	no	477	4405503	831	250,58975
AE015451.1	2427570	2428259	PP2128 cheV-2 Chemiotaxis	no	690	2427807	824	246,1752
AE015451.1	4427316	4427865	broad hyp	no	550	4427557	811	238,04523
AE015451.1	2391245	2391897	PP2097 sensory box protein next to PP2096 hyp	yes	653	2391583	791	220,40198
AE015451.1	41857	42253	PP0039 hyp	no	397	42054	914	211,89186
AE015451.1	2572398	2572863	PP2255 DctA C4 dicarboxylase transporter	no	466	2572604	746	198,7793
AE015451.1	1057632	1058298	PP0914 GGDEF domain prot	no	667	1058005	743	197,02464
AE015451.1	1883745	1884284	PP1691 PP1692 hyp hyp divergents large intergenic	no	540	1884027	717	182,03972
AE015451.1	1232585	1232958	PP1073 glpD glicerol 3 P DH	no	374	1232765	714	180,33667
AE015451.1	3537309	3537940	PP3126 polysaccharide export protein	yes	632	3537595	874	172,27411
AE015451.1	5532812	5533470	PP4866 branched chain aa permease	no	659	5533208	895	165,1389
AE015451.1	1492307	1492943	PP1305 convergent	no	637	1492524	748	142,81747
AE015451.1	39998	40626	PP0037 oprP porin	yes	629	40311	735	121,43826
AE015451.1	161439	162274			836	161876	3549	2476,46484
AE015451.1	5140034	5140790			757	5140464	2378	1518,10669
AE015451.1	2102475	2103408			934	2103069	2476	1493,00366
AE015451.1	4013006	4013777	crcY	yes	772	4013423	2071	1188,35193
AE015451.1	5549061	5549761	PP4881 iron ABC transporter and PP4880 vacB	no	701	5549468	2058	951,18439
AE015451.1	5110600	5111369	PP4496 aromatic aa transporter	yes	770	5110910	1568	778,68097
AE015451.1	1355186	1355900			715	1355616	1369	627,83032
AE015451.1	733133	733880			748	733481	1447	592,56287

AE015451.1	1386117	1386952	PP1206 oprD porin	no	836	1386554	1499	501,11594
AE015451.1	751909	752820	PP0641 hyp	no	912	752399	1824	463,71646
AE015451.1	3646603	3647502	PP3213 ABC transporter periplasmic PP3214 hyp divergentes	no	900	3647143	1123	455,27866
AE015451.1	5908800	5909683	PP5181 potF2 putrescine transporter	no	884	5909325	1356	431,13425
AE015451.1	1898279	1899171	PP1702 hyp PP1703 assimilatory nitrate/sulfite reductase	no	893	1898867	1084	425,81958
AE015451.1	3753879	3754654	PP3317 hyp PP3319 sensory box GGDEF	no	776	3754138	1077	420,59579
AE015451.1	108361	109262	PP0103 citochrome c oxidase	no	902	108843	1110	382,22757
AE015451.1	233459	234378	PP0181 hyp	no	920	233999	964	310,96634
AE015451.1	1123304	1124204	PP0985 cold shock family	yes	901	1123802	905	272,08728
AE015451.1	3890367	3891095	PP3434 hyp PP3435 hyp	yes	729	3890787	968	267,9682
AE015451.1	1978870	1979693	PP1772 rpsA ribosomal protein s1	no	824	1979228	959	261,91992
AE015451.1	850051	850826	PP0732 hemaA very large intergenic.	yes	776	850594	876	234,9982
AE015451.1	2640018	2640883	PP2310 MCS methyl accepting chemotaxis transducer	yes	866	2640689	829	226,50716
AE015451.1	6144058	6144864	PP5392 hyp	no	807	6144503	1330	224,86487
AE015451.1	483914	484698	PP0397 hyp	no	785	484461	857	223,54167
AE015451.1	655826	656580	PP0563 response regulator PP0564 hyp	no	755	656303	782	220,23657
AE015451.1	2585508	2586345	PP2265 prophage fol D2	no	838	2585846	780	219,02536
AE015451.1	1929638	1930402	PP1728 hyp PP1729 hyp	no	765	1930184	778	217,81638
AE015451.1	131024	131958			935	131356	791	199,83246
AE015451.1	38605	39424	PP0035- PP0036 oprP	yes	820	39083	910	199,78331
AE015451.1	1981254	1982181	PP1773 ihfB	no	928	1981547	771	142,33287
AE015451.1	4360879	4361729			851	4361450	845	133,84483
AE015451.1	4551719	4552419			701	4552147	803	129,95354
AE015451.1	3670047	3671272	PP3234 heat shock protein HSP20	yes	1226	3670973	2977	1139,48389
AE015451.1	5236991	5238006	PP4614 hyp	yes	1016	5237207	1567	544,84479
AE015451.1	3721555	3722836	PP3287 Crp Fnr transcriptional regulator PP3288 universal stre	no	1282	3722461	1331	485,25113
AE015451.1	6095881	6096989	PP5347 accC2 acetyl CoA carboxylase PP5348 Lys R transcri	no	1109	6096792	1156	466,18268
AE015451.1	3276064	3277028	PP2875 hyp	no	965	3276649	964	333,45279
AE015451.1	2388224	2389286	PP2096 hyp	yes	1063	2388651	864	250,27937
AE015451.1	4543266	4544569			1304	4544328	1147	247,2691
AE015451.1	5650803	5651315	PP4959 PP4958 HK RR	no	513	5651092	665	153,30974
AE015451.1	5751587	5752566	PP5046 glnA ntrBC		980	5751865	644	142,19862
AE015451.1	1	237			237	54	628	133,93137
AE015451.1	2892624	2892980	PP2547 LysR transcriptional regulator PP2548 MFS sugar tran	no	357	2892795	622	130,87636
AE015451.1	4866505	4866965	PP4277 GntR transcriptional regulator divergent PP4278 xdhA	yes	461	4866701	601	120,38257
AE015451.1	4161756	4162226	PP3663 GGDEF	no	471	4161950	598	118,9091
AE015451.1	1744885	1746235	putative prophage		1351	1745403	644	116,55054
AE015451.1	744341	744927	PP0635 cold shock	no	587	744627	750	115,40844
AE015451.1	5133982	5134343	-		362	5134156	583	111,64004

AE015451.1	15888	16460	-	573	16188	678	104,29041
AE015451.1	2198002	2199063	-	1062	2198181	1027	102,93904
AE015451.1	1278158	1278989	-	832	1278416	1043	100,97066
AE015451.1	3650796	3651122	-	327	3650951	521	83,41442
AE015451.1	4601794	4602301	-	508	4602031	516	81,27225
AE015451.1	5336456	5338104	PP4696 cbrB	1649	5336845	5694	2521,43896
AE015451.1	1315527	1316672	PP1149 hyp coord	1146	1316332	3423	2298,50464
AE015451.1	5360684	5362029	PP4717 hyp PP4718 tpi triosa fosfato isomerasa	1346	5361128	3548	2250,60034
AE015451.1	1833478	1835048	PP1637 dgkA1 lysR TR PP1638 fpr ferredoxin NADP reductase	1571	1833944	3827	2220,92871
AE015451.1	698090	703000	-	4911	699526	3670	956,33887
AE015451.1	5079016	5080022	PP4471 mgtE Mg transporter	1007	5079533	2205	908,13544
AE015451.1	2241396	2242466	PP1978 terR Transcriptional regulator	1071	2241901	1668	831,39838
AE015451.1	593140	594352	PP0504 OprG	1213	594038	1729	808,47937
AE015451.1	2548966	2553869	PP2240 rRNA	4904	2550388	3330	791,50903
AE015451.1	4154615	4155831	PP3658 aromatic MFS transporter	1217	4155505	1707	702,22626
AE015451.1	6146064	6147549	PP5392 hyp repetido	1486	6147261	2536	662,03558
AE015451.1	6149880	6151181	PP5394 PP5395 hyp	1302	6150630	2357	656,78284
AE015451.1	2727045	2728385	PP2389 hyp PP2390 LysR	1341	2728133	1478	633,52936
AE015451.1	4834675	4836463		1789	4835435	1696	547,81879
AE015451.1	2467334	2468419	convergentes	1086	2467752	1356	526,2998
AE015451.1	2163076	2164644		1569	2163845	1719	475,63443
AE015451.1	1325716	1330481		4766	1327078	2503	434,32544
AE015451.1	5101669	5103423		1755	5101996	1299	428,58356
AE015451.1	5936309	5937894		1586	5936600	1366	418,09674
AE015451.1	1818272	1819834		1563	1818666	1050	388,41187
AE015451.1	1140704	1142916		2213	1142310	1195	348,35751
AE015451.1	5574742	5576351		1610	5576041	1016	341,50906
AE015451.1	525197	529866		4670	526512	2287	322,62891
AE015451.1	4587764	4589554		1791	4588041	963	316,00217
AE015451.1	1705591	1706647		1057	1705936	925	312,26382
AE015451.1	2063443	2064396		954	2063739	925	312,26382
AE015451.1	4224337	4226941		2605	4224807	1609	295,77527
AE015451.1	4323939	4325425		1487	4324672	912	286,02759
AE015451.1	2215732	2217238		1507	2215928	1532	281,7934
AE015451.1	1482504	1484349		1846	1482786	1060	277,9762
AE015451.1	1388467	1390003		1537	1389686	1136	277,50806
AE015451.1	2720302	2721837		1536	2720645	857	259,03403
AE015451.1	5307470	5312427		4958	5311401	2122	257,85663
AE015451.1	31858	33142		1285	32782	1039	253,74394

AE015451.1	3307639	3309729
AE015451.1	4986420	4987771
AE015451.1	3533167	3534283
AE015451.1	3937821	3938961
AE015451.1	898471	900410
AE015451.1	2034201	2035288
AE015451.1	4519006	4520678
AE015451.1	2984963	2986469
AE015451.1	574766	576282
AE015451.1	4951536	4953158
AE015451.1	3871510	3872738
AE015451.1	4735087	4736556
AE015451.1	3728721	3730323
AE015451.1	2816253	2817228
AE015451.1	180287	181804
AE015451.1	4413150	4415672
AE015451.1	3447708	3448662
AE015451.1	4617530	4619431
AE015451.1	5536635	5537867
AE015451.1	4372076	4373629
AE015451.1	4627992	4629344
AE015451.1	54706	56233
AE015451.1	2846479	2847660
AE015451.1	5265985	5267774
AE015451.1	3410951	3412205
AE015451.1	2856847	2858299
AE015451.1	6166209	6167500
AE015451.1	5381871	5383802
AE015451.1	6107912	6108875
AE015451.1	3514868	3516083
AE015451.1	1850037	1851819
AE015451.1	2811200	2812735
AE015451.1	2225379	2226992
AE015451.1	1512632	1514083
AE015451.1	6086891	6087893
AE015451.1	4110599	4111572
AE015451.1	225048	225758
AE015451.1	1626999	1629559
AE015451.1	4362742	4365079

2091	3307928	831	250,58975
1352	4987130	1084	244,3233
1117	3533499	889	237,45694
1141	3938378	928	237,33672
1940	900089	843	233,51297
1088	2034494	956	230,8567
1673	4519634	919	230,23122
1507	2985245	797	229,39087
1517	575762	808	220,2037
1623	4952218	992	218,98209
1229	3872233	851	217,74396
1470	4736110	930	214,47923
1603	3730003	873	213,03157
976	2817031	1336	211,70943
1518	181197	1965	210,7795
2523	4414550	1044	210,21315
955	3448319	826	209,5961
1902	4617855	1180	207,91028
1233	5536975	906	206,63162
1554	4372651	1130	204,44394
1353	4628393	1219	200,31577
1528	55677	983	200,31335
1182	2846804	747	199,36534
1790	5266601	851	197,18843
1255	3411486	972	196,3308
1453	2857286	767	191,32968
1292	6166407	1177	190,15326
1932	5383379	806	188,86296
964	6108230	798	187,35034
1216	3515488	1117	185,55923
1783	1850702	762	184,9548
1536	2811509	872	182,70842
1614	2226698	1240	180,09526
1452	1513498	712	179,20435
1003	6087671	711	178,63908
974	4111222	813	177,72551
711	225461	709	177,51041
2561	1628546	801	177,1311
2338	4363022	931	175,49181

AE015451.1	3578232	3579548	1317	3579116	769	174,43108
AE015451.1	5041474	5044501	3028	5042127	1082	172,24866
AE015451.1	5972675	5975812	3138	5973827	992	170,67386
AE015451.1	4188164	4189316	1153	4188650	879	169,25729
AE015451.1	2344339	2346648	2310	2344866	694	169,12361
AE015451.1	4873184	4873900	717	4873569	692	168,0159
AE015451.1	4538284	4539321	1038	4538638	797	167,06422
AE015451.1	3936000	3937243	1244	3936932	797	166,83414
AE015451.1	2821580	2822193	614	2821807	1173	166,6651
AE015451.1	5602724	5604894	2171	5604250	802	163,95171
AE015451.1	3888610	3889825	1216	3888939	783	163,42654
AE015451.1	4629605	4631105	1501	4630701	1027	163,35271
AE015451.1	5194493	5196326	1834	5195535	683	163,0623
AE015451.1	2150300	2151429	1130	2150902	711	162,79123
AE015451.1	2650097	2651199	1103	2650482	680	161,42247
AE015451.1	5563816	5564983	1168	5564205	733	160,9567
AE015451.1	193571	194812	1242	194387	786	160,60555
AE015451.1	4965039	4965730	692	4965304	1162	160,2552
AE015451.1	6127780	6128839	1060	6128488	712	159,91336
AE015451.1	331563	333999	2437	332209	718	158,15245
AE015451.1	3000916	3001420	505	3001143	673	157,61852
AE015451.1	2598277	2600184	1908	2598888	692	156,81207
AE015451.1	1728204	1728955	752	1728676	670	155,99788
AE015451.1	171664	173286	1623	172757	2093	154,3214
AE015451.1	1307228	1308104	877	1307803	657	149,0426
AE015451.1	1916255	1917430	1176	1916540	675	147,56314
AE015451.1	4534591	4535546	956	4535266	699	146,59526
AE015451.1	2523125	2524170	1046	2523407	651	145,86987
AE015451.1	730291	731359	1069	730518	729	143,02422
AE015451.1	410485	411053	569	410812	637	138,56029
AE015451.1	3409824	3410815	992	3410421	853	138,42888
AE015451.1	1495476	1497301	1826	1495698	719	137,04892
AE015451.1	1742323	1743044	722	1742609	665	136,6349
AE015451.1	4653010	4653700	691	4653388	645	134,79645
AE015451.1	4546925	4548150	1226	4547173	994	133,66415
AE015451.1	2218514	2219838	1325	2218804	1292	132,99477
AE015451.1	848890	849834	945	849310	706	132,82822
AE015451.1	2674441	2675163	723	2674823	624	131,89192
AE015451.1	1279415	1281407	1993	1280904	1053	131,62845

AE015451.1	5397845	5401071	3227	5400031	997	131,41756
AE015451.1	4954208	4954797	590	4954549	840	129,00444
AE015451.1	3904597	3904985	389	3904787	616	127,84638
AE015451.1	4968100	4970329	2230	4970067	1023	127,49702
AE015451.1	2420385	2421185	801	2420660	615	127,34384
AE015451.1	341160	342915	1756	341572	635	125,72057
AE015451.1	5710884	5711368	485	5711135	610	124,84168
AE015451.1	1864475	1865517	1043	1864841	609	124,34338
AE015451.1	2493329	2494707	1379	2493560	609	124,34338
AE015451.1	747931	750972	3042	750426	1091	124,11453
AE015451.1	5292587	5294580	1994	5294330	608	123,84578
AE015451.1	4004742	4005703	962	4004953	609	123,11643
AE015451.1	4196845	4198004	1160	4197580	843	122,65446
AE015451.1	4619972	4621696	1725	4621042	1086	122,23624
AE015451.1	2404438	2405178	741	2404758	612	122,15817
AE015451.1	462185	465269	3085	465088	652	121,82485
AE015451.1	3261226	3261883	658	3261495	600	119,89069
AE015451.1	360151	362082	1932	361783	659	118,85355
AE015451.1	623045	623979	935	623722	597	118,4194
AE015451.1	3448934	3450731	1798	3449531	670	117,84032
AE015451.1	4991880	4992749	870	4992116	825	117,62775
AE015451.1	1718627	1719411	785	1718974	595	117,44215
AE015451.1	5001840	5004610	2771	5003806	1251	117,10559
AE015451.1	1399119	1400257	1139	1399448	593	116,4678
AE015451.1	6048546	6049424	879	6049204	592	115,98173
AE015451.1	53600	54427	828	54206	789	115,50157
AE015451.1	1248727	1250140	1414	1249614	618	115,22028
AE015451.1	2531891	2532590	700	2532132	590	115,01176
AE015451.1	5021569	5022856	1288	5022369	766	114,05517
AE015451.1	4799371	4800047	677	4799712	587	113,56232
AE015451.1	4152339	4154083	1745	4153336	749	111,19528
AE015451.1	4496331	4500773	4443	4497115	1028	109,4612
AE015451.1	949664	950506	843	950143	636	109,17099
AE015451.1	5373111	5373495	385	5373298	574	107,35841
AE015451.1	886765	888812	2048	887055	573	106,88642
AE015451.1	3078975	3079520	546	3079265	571	105,94471
AE015451.1	5132141	5133005	865	5132713	571	105,94471
AE015451.1	4189919	4191267	1349	4191038	779	105,19332
AE015451.1	1093868	1094773	906	1094474	569	105,00602

AE015451.1	4101485	4102062	578	4101681	569	105,00602
AE015451.1	2591461	2592112	652	2591759	567	104,07037
AE015451.1	4800385	4801159	775	4800681	567	104,07037
AE015451.1	1476678	1477943	1266	1477388	569	103,94703
AE015451.1	3740938	3742227	1290	3741972	566	103,60369
AE015451.1	5048290	5050485	2196	5048640	1143	103,20289
AE015451.1	23149	25351	2203	24912	748	103,06084
AE015451.1	3501528	3503323	1796	3502716	842	102,56358
AE015451.1	4563761	4564747	987	4564170	562	101,74461
AE015451.1	5931452	5932809	1358	5932509	724	101,60176
AE015451.1	4107733	4108115	383	4107921	585	101,57173
AE015451.1	2638321	2639268	948	2639012	567	100,88213
AE015451.1	177695	178687	993	178187	2138	100,76597
AE015451.1	5029965	5032608	2644	5031885	743	100,40488
AE015451.1	4812783	4818087	5305	4817653	987	99,30843
AE015451.1	4081849	4083304	1456	4083020	581	99,01764
AE015451.1	1241807	1242682	876	1242407	574	98,71701
AE015451.1	5028912	5029830	919	5029379	743	98,66994
AE015451.1	3507488	3509171	1684	3508429	681	97,75844
AE015451.1	5728637	5729158	522	5728916	553	97,60681
AE015451.1	4308089	4308773	685	4308459	563	96,9372
AE015451.1	5380414	5380941	528	5380649	663	96,92377
AE015451.1	3518260	3521839	3580	3518780	1054	95,22104
AE015451.1	2618166	2619424	1259	2618647	546	94,43222
AE015451.1	5019283	5020895	1613	5020189	719	93,70077
AE015451.1	4595049	4595448	400	4595230	543	93,08353
AE015451.1	6015802	6017528	1727	6017259	615	92,96902
AE015451.1	5552357	5552940	584	5552629	743	92,63653
AE015451.1	395939	397042	1104	396238	545	92,04268
AE015451.1	4940905	4944794	3890	4944575	993	92,03828
AE015451.1	4559355	4560394	1040	4560146	540	91,74198
AE015451.1	1792494	1792954	461	1792745	538	90,85162
AE015451.1	5189519	5190518	1000	5190307	538	90,85162
AE015451.1	1449433	1450120	688	1449874	537	90,40765
AE015451.1	5243006	5244598	1593	5244342	674	90,18024
AE015451.1	5250956	5251296	341	5251129	536	89,96447
AE015451.1	514669	515895	1227	514996	534	89,08054
AE015451.1	2796343	2796964	622	2796687	533	88,63979
AE015451.1	2194430	2195917	1488	2195394	974	88,22088

AE015451.1	839561	840131	571	839764	527	86,01236
AE015451.1	1300953	1301857	905	1301216	527	86,01236
AE015451.1	612168	612763	596	612371	526	85,57731
AE015451.1	3838351	3839604	1254	3838897	526	85,57731
AE015451.1	5907807	5908217	411	5908026	706	85,23591
AE015451.1	1218235	1218572	338	1218392	525	85,14308
AE015451.1	2115994	2116636	643	2116279	525	85,14308
AE015451.1	29416	30059	644	29892	721	84,96231
AE015451.1	947059	947567	509	947381	557	84,37492
AE015451.1	2271384	2272136	753	2271742	523	84,2771
AE015451.1	5260413	5261704	1292	5260607	522	83,84534
AE015451.1	2186027	2188783	2757	2187702	1040	81,77643
AE015451.1	570421	571178	758	570612	517	81,69902
AE015451.1	6000604	6001889	1286	6000834	516	81,27225
AE015451.1	1553310	1553955	646	1553599	515	80,84632
AE015451.1	1606261	1607089	829	1606564	515	80,84632
AE015451.1	4484511	4484957	447	4484759	515	80,84632
AE015451.1	2384964	2385432	469	2385149	513	79,99698
AE015451.1	5560458	5560851	394	5560633	583	79,9465
AE015451.1	4934143	4934898	756	4934559	781	79,83592
AE015451.1	757009	759260	2252	758498	519	79,79117
AE015451.1	9090	9703	614	9488	554	79,66062
AE015451.1	237732	238191	460	237955	564	79,63566
AE015451.1	3035083	3036487	1405	3035407	511	79,151
AE015451.1	5391283	5392812	1530	5392587	736	78,36256
AE015451.1	359386	360093	708	359758	569	78,31313
AE015451.1	1755134	1755505	372	1755324	509	78,3084
AE015451.1	4644114	4645002	889	4644560	509	78,3084
AE015451.1	4301884	4302572	689	4302351	511	77,0787
AE015451.1	5004833	5007756	2924	5007459	1107	76,88265
AE015451.1	1043951	1045375	1425	1044523	504	76,21678
AE015451.1	4112159	4112643	485	4112467	590	76,12632
AE015451.1	4306733	4307633	901	4306984	542	75,91222
AE015451.1	397449	398523	1075	398075	514	75,83882
AE015451.1	5630122	5630558	437	5630300	503	75,80102
AE015451.1	6181082	6181863	782	6181668	503	75,80102
AE015451.1	2181980	2184023	2044	2183839	1050	75,77702
AE015451.1	4655680	4657023	1344	4656062	530	75,50529
AE015451.1	2886023	2887376	1354	2886326	501	74,97207

AE015451.1	4199082	4201151	2070	4199405	698	74,93562
AE015451.1	2168619	2169699	1081	2168967	822	74,75183
AE015451.1	4623942	4624923	982	4624414	893	74,43925
AE015451.1	2205892	2207279	1388	2206081	690	74,17398
AE015451.1	444550	445475	926	445163	497	73,32452
AE015451.1	3557540	3558163	624	3557811	497	73,32452
AE015451.1	1565375	1566087	713	1565535	496	72,9148
AE015451.1	3826041	3826855	815	3826276	496	72,9148
AE015451.1	860063	862000	1938	860620	534	72,61271
AE015451.1	2709129	2709478	350	2709332	495	72,50595
AE015451.1	1126264	1127002	739	1126537	544	72,43125
AE015451.1	3275250	3275974	725	3275639	494	71,69172
AE015451.1	6114047	6114559	513	6114275	516	71,34658
AE015451.1	2117092	2117885	794	2117632	492	71,28464
AE015451.1	4373942	4375020	1079	4374793	785	70,90664
AE015451.1	4295215	4296049	835	4295634	491	70,87929
AE015451.1	3412311	3413051	741	3412772	675	70,67213
AE015451.1	6164122	6164675	554	6164337	804	70,45543
AE015451.1	2403070	2403605	536	2403334	495	70,41928
AE015451.1	5114633	5115200	568	5114975	528	70,354
AE015451.1	1269341	1269873	533	1269639	488	69,66851
AE015451.1	3073960	3075375	1416	3074818	487	69,26669
AE015451.1	4061812	4062606	795	4062379	486	68,86575
AE015451.1	2123549	2124825	1277	2124381	484	68,06653
AE015451.1	6167908	6168691	784	6168516	803	67,80012
AE015451.1	4914728	4916344	1617	4916135	499	67,56497
AE015451.1	3764546	3765763	1218	3764959	482	67,27087
AE015451.1	5965597	5966192	596	5965944	482	67,27087
AE015451.1	4210029	4212633	2605	4211159	592	67,02575
AE015451.1	321754	322542	789	321982	481	66,87439
AE015451.1	3505957	3506603	647	3506383	751	66,60915
AE015451.1	4966026	4966494	469	4966214	874	66,52769
AE015451.1	4842944	4843651	708	4843124	491	66,51368
AE015451.1	3201982	3202570	589	3202175	479	66,08411
AE015451.1	1293405	1294074	670	1293879	478	65,69032
AE015451.1	4219054	4219587	534	4219218	549	65,1987
AE015451.1	5072892	5073959	1068	5073127	932	64,85639
AE015451.1	765232	765541	310	765400	474	64,12421
AE015451.1	2643815	2644707	893	2644013	474	64,12421

AE015451.1	2109195	2109695	501	2109400	473	63,73495
AE015451.1	343875	344296	422	344082	482	63,406
AE015451.1	1777250	1778250	1001	1777534	472	63,34661
AE015451.1	3401738	3402777	1040	3402039	472	63,34661
AE015451.1	196674	197319	646	197089	551	62,99515
AE015451.1	1986205	1987822	1618	1987189	509	62,51557
AE015451.1	2625975	2626368	394	2626155	542	61,82978
AE015451.1	2590472	2591176	705	2590826	468	61,80238
AE015451.1	3974715	3975303	589	3975060	468	61,80238
AE015451.1	1095934	1096327	394	1096133	467	61,41862
AE015451.1	1607444	1607829	386	1607632	466	61,03579
AE015451.1	3925770	3926604	835	3926307	466	61,03579
AE015451.1	5444586	5445015	430	5444855	465	60,65388
AE015451.1	2064741	2065510	770	2065312	464	60,27289
AE015451.1	6019892	6020879	988	6020703	530	59,98715
AE015451.1	672546	673790	1245	673527	463	59,89284
AE015451.1	975982	976349	368	976180	463	59,89284
AE015451.1	2044095	2045039	945	2044504	463	59,89284
AE015451.1	6169311	6170279	969	6170062	700	59,53544
AE015451.1	4174944	4177422	2479	4175831	960	59,3437
AE015451.1	3542483	3542896	414	3542710	518	59,1546
AE015451.1	1494305	1494968	664	1494656	531	58,74994
AE015451.1	12662	13454	793	13086	573	58,65785
AE015451.1	482030	482638	609	482461	521	58,62903
AE015451.1	2003771	2006316	2546	2005335	995	58,57698
AE015451.1	2113996	2114677	682	2114439	456	57,25864
AE015451.1	4195083	4195505	423	4195238	707	56,69495
AE015451.1	45474	46234	761	46064	454	56,5145
AE015451.1	179011	179565	555	179197	1757	56,46982
AE015451.1	2213119	2214255	1137	2213741	791	56,10824
AE015451.1	4351597	4351950	354	4351773	465	55,93991
AE015451.1	1956237	1957596	1360	1957343	451	55,40539
AE015451.1	2202084	2202448	365	2202269	701	55,29084
AE015451.1	3540786	3542023	1238	3541801	524	55,04526
AE015451.1	2672230	2672818	589	2672458	449	54,67076
AE015451.1	5967456	5967987	532	5967649	487	54,36602
AE015451.1	1193659	1193923	265	1193787	448	54,30489
AE015451.1	5050988	5052922	1935	5051878	848	54,01303
AE015451.1	3580638	3581922	1285	3581579	471	53,77503

AE015451.1	1276560	1277635		1076	1277412	864	53,6754
AE015451.1	2436443	2436862		420	2436674	443	52,48999
AE015451.1	2267007	2267509		503	2267226	440	51,41269
AE015451.1	3202685	3203167	PP2810 hyp	483	3202875	440	51,41269
AE015451.1	3919751	3920243		493	3919946	439	51,05555
AE015451.1	4178133	4181583		3451	4180511	970	50,7352
AE015451.1	5853687	5854015		329	5853852	438	50,69939
AE015451.1	5397078	5397697		620	5397428	791	50,49588
AE015451.1	4228795	4230437		1643	4229287	965	50,45155
AE015451.1	4872360	4872873		514	4872683	437	50,34421
AE015451.1	5010986	5011887		902	5011275	649	50,23324
AE015451.1	4632444	4632697		254	4632578	726	50,09813
AE015451.1	561187	561686		500	561404	508	49,90334
AE015451.1	4931235	4931925		691	4931411	613	49,87451
AE015451.1	3382342	3383195		854	3382737	728	49,51099
AE015451.1	480749	481349		601	481161	495	49,49437
AE015451.1	1075096	1075460		365	1075266	433	48,93338
AE015451.1	2882228	2882658		431	2882391	433	48,93338
AE015451.1	5062858	5063680		823	5063412	804	48,85483
AE015451.1	3841466	3842260		795	3841994	431	48,23391
AE015451.1	4422272	4422807		536	4422491	429	47,53845
AE015451.1	4812132	4812622		491	4812426	774	47,15268
AE015451.1	5555377	5555734		358	5555548	507	47,03672
AE015451.1	5066507	5068744		2238	5068507	987	46,52046
AE015451.1	5240266	5241289		1024	5241058	704	46,49685
AE015451.1	5971724	5972301		578	5972017	683	46,40201
AE015451.1	6002146	6002883		738	6002326	435	46,27086
AE015451.1	1970851	1971238		388	1971024	425	46,15958
AE015451.1	4939188	4940695		1508	4940038	933	46,10608
AE015451.1	3857607	3857983		377	3857794	422	45,13606
AE015451.1	5501525	5502019		495	5501677	422	45,13606
AE015451.1	2006559	2007340		782	2006843	849	44,6063
AE015451.1	4354704	4355141		438	4354946	444	44,52111
AE015451.1	545957	547634		1678	546130	459	44,44014
AE015451.1	5449035	5449463		429	5449211	419	44,12172
AE015451.1	5827872	5829012		1141	5828112	419	44,12172
AE015451.1	1585908	1586576		669	1586341	418	43,78565
AE015451.1	3351502	3352373		872	3351717	418	43,78565
AE015451.1	2233134	2233452		319	2233318	417	43,45061

AE015451.1	2035596	2036772	1177	2036318	479	43,27984
AE015451.1	4376145	4376995	851	4376629	676	43,13353
AE015451.1	1555383	1556048	666	1555864	416	43,11661
AE015451.1	5699231	5699907	677	5699525	416	43,11661
AE015451.1	3546641	3547414	774	3547006	415	42,78364
AE015451.1	2621106	2621934	829	2621598	458	42,50912
AE015451.1	1380216	1381389	1174	1380926	414	42,45171
AE015451.1	3342088	3343255	1168	3342493	414	42,45171
AE015451.1	2196573	2197389	817	2196801	790	41,44107
AE015451.1	2823237	2823929	693	2823620	529	41,189
AE015451.1	1765468	1766045	578	1765712	410	41,13439
AE015451.1	5799693	5800401	709	5800203	410	41,13439
AE015451.1	6030336	6030983	648	6030789	409	40,80768
AE015451.1	168393	168782	390	168539	940	40,74585
AE015451.1	6156325	6157069	745	6156568	518	40,66683
AE015451.1	3499825	3500843	1019	3500110	552	40,55348
AE015451.1	869441	870029	589	869769	408	40,48202
AE015451.1	1784937	1785611	675	1785303	408	40,48202
AE015451.1	4643040	4643817	778	4643221	408	40,48202
AE015451.1	5069344	5069790	447	5069506	950	40,40313
AE015451.1	1348943	1349317	375	1349130	407	40,15741
AE015451.1	4924636	4925251	616	4924918	448	39,55408
AE015451.1	1441769	1442154	386	1441958	405	39,51137
AE015451.1	5366388	5366877	490	5366663	405	39,51137
AE015451.1	5268805	5269225	421	5269003	490	39,44246
AE015451.1	1238995	1239313	319	1239165	404	39,18994
AE015451.1	6137001	6137376	376	6137193	404	39,18994
AE015451.1	5291687	5292366	680	5291997	403	38,86957
AE015451.1	174963	176244	1282	176086	1956	38,82834
AE015451.1	104875	105307	433	105053	418	38,68274
AE015451.1	2780674	2781180	507	2780926	402	38,55027
AE015451.1	5060872	5061212	341	5061014	583	38,3087
AE015451.1	1585085	1585391	307	1585225	401	38,23204
AE015451.1	3534566	3534940	375	3534804	473	37,96274
AE015451.1	305847	306189	343	306017	400	37,91488
AE015451.1	2360557	2361573	1017	2361255	400	37,91488
AE015451.1	358323	358878	556	358566	456	37,7641
AE015451.1	2632776	2633516	741	2633033	399	37,5988
AE015451.1	2630097	2630668	572	2630479	429	37,30357

AE015451.1	4073605	4074079	475	4073739	398	37,28379
AE015451.1	2132517	2133955	1439	2132865	397	36,96987
AE015451.1	3784485	3785233	749	3784820	397	36,96987
AE015451.1	5595951	5596556	606	5596184	397	36,96987
AE015451.1	173585	174042	458	173779	1700	36,87939
AE015451.1	2726457	2726766	310	2726598	483	36,37582
AE015451.1	4349036	4350285	1250	4349977	395	36,34526
AE015451.1	4456847	4457146	300	4456990	395	36,34526
AE015451.1	1245743	1247084	1342	1246393	466	36,30702
AE015451.1	5941269	5942076	808	5941413	500	36,2906
AE015451.1	3113712	3114460	749	3113899	394	36,03459
AE015451.1	2000704	2002088	1385	2001393	806	36,00293
AE015451.1	2786724	2787058	335	2786871	393	35,72501
AE015451.1	2154692	2155720	1029	2154918	426	35,47816
AE015451.1	245288	245629	342	245455	392	35,41652
AE015451.1	4087274	4087714	441	4087480	392	35,41652
AE015451.1	5758072	5758607	536	5758363	392	35,41652
AE015451.1	3869056	3869508	453	3869374	447	35,40946
AE015451.1	6017720	6018177	458	6017954	451	35,34306
AE015451.1	242792	243951	1160	243623	391	35,10913
AE015451.1	2164992	2165920	929	2165432	789	35,00124
AE015451.1	1502997	1505799	2803	1504273	390	34,80283
AE015451.1	5188768	5189340	573	5189069	389	34,49764
AE015451.1	2629039	2630001	963	2629206	440	34,2669
AE015451.1	2999869	3000248	380	3000025	388	34,19355
AE015451.1	6179845	6180868	1024	6180486	388	34,19355
AE015451.1	4994210	4994605	396	4994445	526	34,14679
AE015451.1	2921087	2921821	735	2921428	387	33,89057
AE015451.1	5944110	5944620	511	5944359	391	33,80156
AE015451.1	4996799	4997142	344	4997023	547	33,71267
AE015451.1	4932347	4933394	1048	4933003	583	33,64715
AE015451.1	1593823	1594056	234	1593925	386	33,5887
AE015451.1	1737885	1738203	319	1738043	385	33,28794
AE015451.1	2338013	2338243	231	2338132	385	33,28794
AE015451.1	3264193	3264840	648	3264604	384	32,98829
AE015451.1	6163294	6163854	561	6163556	661	32,6521
AE015451.1	2742141	2742629	489	2742314	382	32,39236
AE015451.1	5529065	5530289	1225	5529232	436	32,31929
AE015451.1	5071611	5072040	430	5071798	859	32,12924

AE015451.1	6039824	6041085	1262	6040387	381	32,09608
AE015451.1	1960775	1961264	490	1960972	380	31,80092
AE015451.1	5851953	5852449	497	5852125	380	31,80092
AE015451.1	781659	782006	348	781865	379	31,5069
AE015451.1	3404409	3404953	545	3404709	379	31,5069
AE015451.1	4003820	4004342	523	4003963	379	31,5069
AE015451.1	5573821	5574307	487	5574135	412	31,26986
AE015451.1	813110	813540	431	813314	378	31,214
AE015451.1	1225304	1225668	365	1225458	378	31,214
AE015451.1	2081576	2081873	298	2081733	378	31,214
AE015451.1	35654	36115	462	35846	562	31,16301
AE015451.1	1951383	1951646	264	1951524	377	30,92224
AE015451.1	2925511	2925895	385	2925751	377	30,92224
AE015451.1	5553029	5554202	1174	5553230	545	30,85575
AE015451.1	3873721	3874218	498	3873918	411	30,78992
AE015451.1	2220855	2222092	1238	2221731	973	30,70034
AE015451.1	4909620	4910242	623	4909850	376	30,63162
AE015451.1	2008686	2009119	434	2008972	684	30,58572
AE015451.1	2470296	2470688	393	2470547	450	30,49239
AE015451.1	1748776	1749675	900	1748898	386	30,3117
AE015451.1	252073	253183	1111	252290	374	30,0538
AE015451.1	1827104	1828782	1679	1828316	374	30,0538
AE015451.1	2681281	2681670	390	2681460	374	30,0538
AE015451.1	3127096	3127547	452	3127368	373	29,76661
AE015451.1	799228	799533	306	799380	372	29,48058
AE015451.1	1713699	1714281	583	1713916	372	29,48058
AE015451.1	2683325	2683653	329	2683492	372	29,48058
AE015451.1	3402831	3404259	1429	3404070	372	29,48058
AE015451.1	1298206	1298693	488	1298431	390	29,48035
AE015451.1	5545179	5545565	387	5545343	442	29,17916
AE015451.1	1273973	1274230	258	1274093	595	29,16701
AE015451.1	5934651	5934936	286	5934827	524	29,10841
AE015451.1	1668914	1670328	1415	1669895	370	28,91195
AE015451.1	1684250	1685269	1020	1685105	370	28,91195
AE015451.1	4850044	4850424	381	4850235	370	28,91195
AE015451.1	5903535	5903936	402	5903737	398	28,85646
AE015451.1	5912100	5912955	856	5912516	467	28,83529
AE015451.1	52026	52560	535	52423	510	28,82587
AE015451.1	1064142	1064460	319	1064270	369	28,62938

AE015451.1	5451253	5451808	556	5451522	368	28,34797
AE015451.1	453693	454913	1221	454647	367	28,06773
AE015451.1	979891	980539	649	980070	367	28,06773
AE015451.1	4876948	4877620	673	4877110	366	27,78865
AE015451.1	4080672	4080968	297	4080805	371	27,73404
AE015451.1	475044	475418	375	475243	383	27,18123
AE015451.1	4752588	4752919	332	4752773	363	26,95845
AE015451.1	2223511	2224634	1124	2223656	942	26,80989
AE015451.1	4353982	4354301	320	4354106	396	26,79753
AE015451.1	557206	557602	397	557403	432	26,69381
AE015451.1	349821	350148	328	349975	362	26,68408
AE015451.1	2083166	2083382	217	2083273	362	26,68408
AE015451.1	60556	60841	286	60656	416	26,67002
AE015451.1	4980119	4980414	296	4980252	415	26,54701
AE015451.1	1208633	1209062	430	1208793	361	26,41089
AE015451.1	3373881	3374885	1005	3374382	485	26,29632
AE015451.1	1427693	1428183	491	1427838	360	26,13888
AE015451.1	6104325	6104838	514	6104696	373	25,94658
AE015451.1	3662759	3663005	247	3662865	359	25,86806
AE015451.1	2162602	2162879	278	2162713	622	25,82751
AE015451.1	17337	17839	503	17561	442	25,65719
AE015451.1	4747642	4748261	620	4747997	358	25,59844
AE015451.1	4641666	4642000	335	4641845	373	25,50515
AE015451.1	2184805	2185677	873	2185118	837	24,94646
AE015451.1	236929	237430	502	237198	390	24,8924
AE015451.1	1750267	1751050	784	1750632	355	24,79676
AE015451.1	3728092	3728633	542	3728263	436	24,58927
AE015451.1	1963683	1964188	506	1963826	354	24,53194
AE015451.1	2858742	2859960	1219	2859476	363	24,50684
AE015451.1	4135624	4135899	276	4135760	353	24,26833
AE015451.1	5222537	5222862	326	5222685	353	24,26833
AE015451.1	4157823	4158029	207	4157933	474	24,02472
AE015451.1	1028618	1028999	382	1028856	351	23,74475
AE015451.1	2655158	2655578	421	2655398	351	23,74475
AE015451.1	132362	132639	278	132509	364	23,70476
AE015451.1	5608064	5608320	257	5608202	397	23,45432
AE015451.1	2203085	2203408	324	2203217	558	23,28678
AE015451.1	2624131	2624884	754	2624498	383	23,2495
AE015451.1	673929	674282	354	674077	349	23,22605

AE015451.1	5737032	5737650	619	5737385	349	23,22605
AE015451.1	6158117	6159063	947	6158856	450	23,10318
AE015451.1	281054	281344	291	281204	348	22,96853
AE015451.1	4750283	4750805	523	4750507	348	22,96853
AE015451.1	5319211	5319566	356	5319393	348	22,96853
AE015451.1	5689120	5689552	433	5689291	348	22,96853
AE015451.1	1848335	1848630	296	1848483	363	22,89088
AE015451.1	4314	4647	334	4461	347	22,71225
AE015451.1	2820820	2821456	637	2821304	732	22,49603
AE015451.1	2784869	2785700	832	2785296	346	22,45719
AE015451.1	4548988	4549423	436	4549227	573	22,45683
AE015451.1	2848083	2848861	779	2848280	357	22,39488
AE015451.1	5690057	5690411	355	5690271	345	22,20337
AE015451.1	4960748	4961041	294	4960896	470	22,13417
AE015451.1	685996	686358	363	686164	344	21,95079
AE015451.1	2528860	2529220	361	2529039	344	21,95079
AE015451.1	4007998	4008593	596	4008470	412	21,84083
AE015451.1	6115359	6115775	417	6115556	359	21,76658
AE015451.1	4993045	4993546	502	4993260	456	21,64812
AE015451.1	4320840	4321874	1035	4321618	382	21,61718
AE015451.1	3226621	3227224	604	3226861	342	21,44937
AE015451.1	6009223	6009464	242	6009319	342	21,44937
AE015451.1	3336701	3337132	432	3336864	341	21,20052
AE015451.1	3355306	3355824	519	3355549	341	21,20052
AE015451.1	4958369	4958733	365	4958556	407	21,06497
AE015451.1	1407225	1407466	242	1407316	340	20,95293
AE015451.1	2227374	2227667	294	2227510	650	20,8063
AE015451.1	2406547	2407012	466	2406869	339	20,7066
AE015451.1	2538821	2539187	367	2539035	339	20,7066
AE015451.1	2207580	2208277	698	2207730	488	20,62314
AE015451.1	3350864	3351269	406	3351037	338	20,46153
AE015451.1	3575342	3575688	347	3575489	345	20,37678
AE015451.1	130249	130664	416	130465	367	20,29467
AE015451.1	1418273	1418539	267	1418422	337	20,21772
AE015451.1	4454009	4454745	737	4454300	337	20,21772
AE015451.1	6010891	6011130	240	6011003	336	19,97518
AE015451.1	3999064	3999341	278	3999224	335	19,7339
AE015451.1	4336055	4336299	245	4336191	335	19,7339
AE015451.1	2167025	2168102	1078	2167471	706	19,72989

AE015451.1	2380183	2381029	847	2380450	334	19,4939
AE015451.1	141870	142194	325	142022	333	19,25518
AE015451.1	1803279	1803755	477	1803558	333	19,25518
AE015451.1	3090366	3091288	923	3090881	333	19,25518
AE015451.1	4177531	4178022	492	4177833	839	19,17888
AE015451.1	5064599	5065336	738	5065048	770	19,0456
AE015451.1	5617329	5617600	272	5617478	332	19,01775
AE015451.1	4357904	4358437	534	4358252	434	18,90858
AE015451.1	1349534	1349844	311	1349675	331	18,78159
AE015451.1	3455671	3456096	426	3455908	331	18,78159
AE015451.1	1999825	2000103	279	1999927	605	18,70143
AE015451.1	2193441	2193768	328	2193589	667	18,65426
AE015451.1	4434784	4435213	430	4434965	330	18,54673
AE015451.1	4900113	4900689	577	4900283	330	18,54673
AE015451.1	5114009	5114468	460	5114153	364	18,44258
AE015451.1	122768	123095	328	122927	329	18,31315
AE015451.1	1017311	1017729	419	1017547	329	18,31315
AE015451.1	2690639	2690944	306	2690777	329	18,31315
AE015451.1	4122474	4123354	881	4122713	329	18,31315
AE015451.1	4716658	4716952	295	4716813	329	18,31315
AE015451.1	2460966	2461221	256	2461122	328	18,08087
AE015451.1	3042777	3043081	305	3042904	328	18,08087
AE015451.1	4483426	4483721	296	4483578	328	18,08087
AE015451.1	5325037	5325558	522	5325323	327	17,84989
AE015451.1	6084763	6085512	750	6085140	333	17,81651
AE015451.1	2685001	2685320	320	2685160	326	17,62022
AE015451.1	5735486	5735819	334	5735673	326	17,62022
AE015451.1	5881150	5881506	357	5881310	326	17,62022
AE015451.1	6086213	6086826	614	6086408	326	17,62022
AE015451.1	5753298	5753732	435	5753623	330	17,58088
AE015451.1	126967	127555	589	127109	351	17,58002
AE015451.1	6098887	6099132	246	6099020	330	17,5096
AE015451.1	1226186	1226637	452	1226469	325	17,39185
AE015451.1	1668426	1668719	294	1668540	325	17,39185
AE015451.1	3466064	3466356	293	3466211	325	17,39185
AE015451.1	3921505	3922039	535	3921806	325	17,39185
AE015451.1	4022375	4022896	522	4022522	325	17,39185
AE015451.1	5845567	5846098	532	5845897	325	17,39185
AE015451.1	3538054	3538508	455	3538340	441	17,3621

AE015451.1	5144635	5144888	254	5144742	361	17,17116
AE015451.1	889181	890052	872	889735	323	16,93905
AE015451.1	2654146	2654672	527	2654292	323	16,93905
AE015451.1	4285979	4286331	353	4286152	323	16,93905
AE015451.1	3517094	3517555	462	3517215	712	16,91733
AE015451.1	518169	518683	515	518428	329	16,79407
AE015451.1	1474210	1474943	734	1474399	322	16,71463
AE015451.1	5872381	5873174	794	5872864	322	16,71463
AE015451.1	1296210	1296434	225	1296310	322	16,69022
AE015451.1	5733790	5734051	262	5733894	323	16,64598
AE015451.1	4636296	4636876	581	4636507	325	16,46671
AE015451.1	2245748	2246054	307	2245857	363	16,29319
AE015451.1	1718098	1718427	330	1718214	320	16,26975
AE015451.1	179755	180176	422	180007	1365	16,24042
AE015451.1	1129212	1129560	349	1129350	319	16,0493
AE015451.1	2090443	2090728	286	2090646	319	16,0493
AE015451.1	2572973	2573247	275	2573154	319	16,0493
AE015451.1	5331573	5331773	201	5331661	319	16,0493
AE015451.1	845092	845831	740	845386	342	15,89873
AE015451.1	1489188	1489409	222	1489304	336	15,85661
AE015451.1	505336	505664	329	505497	318	15,83019
AE015451.1	5375390	5375714	325	5375571	318	15,83019
AE015451.1	3924553	3924925	373	3924743	317	15,61241
AE015451.1	5815872	5816239	368	5816088	317	15,61241
AE015451.1	4207934	4208216	283	4208091	383	15,59365
AE015451.1	1661238	1661458	221	1661306	316	15,39598
AE015451.1	4169913	4170166	254	4170063	316	15,39598
AE015451.1	5779596	5779880	285	5779692	316	15,39598
AE015451.1	2158386	2158666	281	2158492	337	15,36114
AE015451.1	4738458	4739284	827	4738886	400	15,34494
AE015451.1	1821899	1822181	283	1822039	322	15,24083
AE015451.1	1531865	1532203	339	1531975	315	15,18089
AE015451.1	3885291	3885693	403	3885473	325	15,01882
AE015451.1	3566447	3566657	211	3566524	313	14,75477
AE015451.1	4079278	4079668	391	4079479	315	14,55425
AE015451.1	1942370	1942695	326	1942501	312	14,54374
AE015451.1	5172960	5173277	318	5173120	312	14,54374
AE015451.1	1270202	1270609	408	1270391	311	14,33407
AE015451.1	5675857	5676075	219	5675985	311	14,33407

AE015451.1	5607314	5607586	273	5607453	382	14,13265
AE015451.1	4862095	4862369	275	4862205	310	14,12577
AE015451.1	6124828	6125086	259	6124907	316	14,08435
AE015451.1	1097917	1098211	295	1098034	319	13,93395
AE015451.1	4729739	4730118	380	4729948	309	13,91884
AE015451.1	6005419	6005720	302	6005538	340	13,91265
AE015451.1	2400194	2400464	271	2400336	308	13,71328
AE015451.1	2851866	2852297	432	2852157	308	13,71328
AE015451.1	3344869	3345167	299	3345003	308	13,71328
AE015451.1	2628177	2628397	221	2628292	353	13,70061
AE015451.1	4995546	4996289	744	4995855	439	13,6516
AE015451.1	1275335	1275864	530	1275702	587	13,59977
AE015451.1	195986	196413	428	196177	371	13,59115
AE015451.1	6177160	6177523	364	6177406	343	13,54476
AE015451.1	2778288	2778487	200	2778392	307	13,5091
AE015451.1	3115204	3115667	464	3115330	307	13,5091
AE015451.1	5447975	5448517	543	5448173	307	13,5091
AE015451.1	5948421	5948891	471	5948524	307	13,5091
AE015451.1	533980	534219	240	534108	671	13,43028
AE015451.1	4008993	4009357	365	4009274	394	13,38006
AE015451.1	1294209	1294572	364	1294333	306	13,3063
AE015451.1	4681485	4681722	238	4681614	306	13,3063
AE015451.1	4838071	4838439	369	4838225	536	13,1939
AE015451.1	5122491	5123108	618	5122642	305	13,10488
AE015451.1	5583250	5583510	261	5583394	305	13,10488
AE015451.1	5986629	5986939	311	5986780	305	13,10488
AE015451.1	1854607	1854881	275	1854739	314	13,05521
AE015451.1	68288	68509	222	68400	304	12,90486
AE015451.1	2027957	2028707	751	2028536	323	12,72029
AE015451.1	479359	479632	274	479442	350	12,70782
AE015451.1	1554627	1554967	341	1554739	303	12,70623
AE015451.1	2377345	2377747	403	2377450	303	12,70623
AE015451.1	2836298	2836896	599	2836578	303	12,70623
AE015451.1	3419618	3420217	600	3420040	303	12,70623
AE015451.1	3948534	3948993	460	3948821	303	12,70623
AE015451.1	2199169	2199400	232	2199271	614	12,54244
AE015451.1	1993032	1993749	718	1993627	302	12,50899
AE015451.1	3548243	3548767	525	3548454	302	12,50899
AE015451.1	5354684	5355275	592	5355185	302	12,50899

AE015451.1	97426	98059	634	97884	301	12,31316
AE015451.1	2259216	2259483	268	2259382	301	12,31316
AE015451.1	2443984	2444509	526	2444357	301	12,31316
AE015451.1	3328525	3328851	327	3328688	301	12,31316
AE015451.1	3967290	3967999	710	3967869	301	12,31316
AE015451.1	4593512	4594042	531	4593909	301	12,31316
AE015451.1	5619977	5620552	576	5620322	301	12,31316
AE015451.1	5470702	5471255	554	5470872	300	12,11874
AE015451.1	5568720	5569117	398	5568880	305	12,00991
AE015451.1	1486886	1487257	372	1487095	385	12,00571
AE015451.1	6006644	6006843	200	6006744	312	11,94085
AE015451.1	1588999	1589243	245	1589137	299	11,92572
AE015451.1	2048854	2049197	344	2049030	299	11,92572
AE015451.1	5482396	5483083	688	5482547	299	11,92572
AE015451.1	1980011	1980259	249	1980139	366	11,86061
AE015451.1	4083704	4083913	210	4083856	319	11,80408
AE015451.1	2820449	2820682	234	2820526	671	11,78462
AE015451.1	1026992	1027244	253	1027063	298	11,73412
AE015451.1	2416694	2416918	225	2416763	298	11,73412
AE015451.1	4639057	4639360	304	4639219	315	11,67487
AE015451.1	3283454	3283705	252	3283612	297	11,54395
AE015451.1	4318997	4319228	232	4319093	297	11,54395
AE015451.1	5812881	5813114	234	5812993	297	11,54395
AE015451.1	6061203	6061517	315	6061364	297	11,54395
AE015451.1	2029486	2031423	1938	2031313	397	11,53186
AE015451.1	4984488	4984787	300	4984657	460	11,52512
AE015451.1	435235	435588	354	435409	296	11,35519
AE015451.1	655067	655309	243	655254	296	11,35519
AE015451.1	921573	921885	313	921777	296	11,35519
AE015451.1	3619506	3619832	327	3619669	296	11,35519
AE015451.1	4096309	4096509	201	4096443	296	11,35519
AE015451.1	4655184	4655410	227	4655270	313	11,32601
AE015451.1	4514816	4515167	352	4515091	317	11,29838
AE015451.1	1135197	1135515	319	1135355	295	11,16786
AE015451.1	5367963	5368253	291	5368083	295	11,16786
AE015451.1	5948944	5949260	317	5949087	295	11,16786
AE015451.1	5905345	5905591	247	5905419	395	11,1248
AE015451.1	6003705	6004024	320	6003884	316	11,09616
AE015451.1	5377355	5377600	246	5377495	342	11,05729

AE015451.1	220439	220840	402	220691	296	11,04349
AE015451.1	436145	436425	281	436317	294	10,98196
AE015451.1	2043679	2044012	334	2043863	294	10,98196
AE015451.1	4404607	4405128	522	4404891	294	10,98196
AE015451.1	4449788	4450034	247	4449869	294	10,98196
AE015451.1	6175753	6176035	283	6175864	308	10,97036
AE015451.1	565952	566492	541	566256	318	10,80918
AE015451.1	1785785	1786213	429	1785955	293	10,7975
AE015451.1	4577542	4577858	317	4577705	293	10,7975
AE015451.1	6178911	6179626	716	6179466	293	10,7975
AE015451.1	5752620	5753015	396	5752783	292	10,61448
AE015451.1	1921227	1921467	241	1921351	298	10,57319
AE015451.1	4924225	4924516	292	4924383	316	10,45135
AE015451.1	113019	113476	458	113322	332	10,44247
AE015451.1	2021813	2022076	264	2022008	290	10,25278
AE015451.1	4425396	4425600	205	4425500	290	10,25278
AE015451.1	5134729	5134969	241	5134862	290	10,25278
AE015451.1	5204464	5204805	342	5204670	290	10,25278
AE015451.1	5730124	5730597	474	5730302	290	10,25278
AE015451.1	5841080	5841403	324	5841305	290	10,25278
AE015451.1	5705087	5705750	664	5705433	289	10,07411
AE015451.1	1138429	1138703	275	1138528	413	9,94015
AE015451.1	63092	63527	436	63394	288	9,89689
AE015451.1	1877699	1877984	286	1877846	288	9,89689
AE015451.1	5350539	5351012	474	5350891	288	9,89689
AE015451.1	4967311	4967723	413	4967534	607	9,72576
AE015451.1	4637210	4637657	448	4637343	301	9,68224
AE015451.1	1302388	1302635	248	1302503	288	9,60025
AE015451.1	6156000	6156240	241	6156117	399	9,57242
AE015451.1	509110	509427	318	509273	286	9,54685
AE015451.1	1170267	1170575	309	1170439	286	9,54685
AE015451.1	1175513	1175713	201	1175634	286	9,54685
AE015451.1	1180313	1180663	351	1180531	286	9,54685
AE015451.1	2710540	2710993	454	2710648	286	9,54685
AE015451.1	2837398	2837858	461	2837645	286	9,54685
AE015451.1	5851164	5851536	373	5851297	286	9,54685
AE015451.1	6152425	6152635	211	6152522	590	9,53599
AE015451.1	251106	251403	298	251269	285	9,37403
AE015451.1	386648	386886	239	386806	285	9,37403

AE015451.1	3121624	3121934	311	3121781	285	9,37403
AE015451.1	3297226	3297449	224	3297351	285	9,37403
AE015451.1	2725355	2725671	317	2725494	404	9,27238
AE015451.1	4979109	4979598	490	4979384	313	9,25012
AE015451.1	2428992	2429494	503	2429372	284	9,2027
AE015451.1	6117589	6117933	345	6117669	284	9,2027
AE015451.1	4927736	4927981	246	4927822	382	8,99969
AE015451.1	5099234	5099475	242	5099397	413	8,99202
AE015451.1	4957453	4957730	278	4957571	377	8,91202
AE015451.1	5562916	5563214	299	5563088	310	8,90254
AE015451.1	638706	638923	218	638796	282	8,86446
AE015451.1	1546346	1546659	314	1546518	282	8,86446
AE015451.1	3381776	3382110	335	3381953	540	8,84849
AE015451.1	1031894	1032149	256	1032036	281	8,69758
AE015451.1	1914587	1914799	213	1914725	281	8,69758
AE015451.1	4886804	4887103	300	4886913	281	8,69758
AE015451.1	3341318	3341697	380	3341485	280	8,53219
AE015451.1	3895050	3895271	222	3895176	280	8,53219
AE015451.1	534879	535150	272	535062	479	8,47984
AE015451.1	1505978	1506553	576	1506083	279	8,36829
AE015451.1	1506610	1506860	251	1506758	279	8,36829
AE015451.1	1941003	1941224	222	1941121	279	8,36829
AE015451.1	2022974	2023275	302	2023154	278	8,2059
AE015451.1	2930874	2931107	234	2931007	278	8,2059
AE015451.1	3245517	3245720	204	3245599	278	8,2059
AE015451.1	3755812	3756088	277	3755936	278	8,2059
AE015451.1	564254	564718	465	564428	298	8,17534
AE015451.1	3721196	3721467	272	3721285	342	8,14069
AE015451.1	2013603	2013865	263	2013695	289	8,11971
AE015451.1	2431706	2431986	281	2431865	281	8,05747
AE015451.1	3009117	3009668	552	3009237	277	8,04502
AE015451.1	189876	190145	270	190011	294	7,91888
AE015451.1	2797599	2797889	291	2797704	276	7,88564
AE015451.1	3506795	3507030	236	3506872	463	7,87355
AE015451.1	880138	880603	466	880323	275	7,72779
AE015451.1	3647596	3647939	344	3647756	275	7,72779
AE015451.1	683197	683425	229	683283	274	7,57145
AE015451.1	1134434	1134699	266	1134584	274	7,57145
AE015451.1	631568	631847	280	631767	273	7,41664

AE015451.1	1796645	1796865	221	1796805	273	7,41664
AE015451.1	5276622	5276855	234	5276719	273	7,41664
AE015451.1	5597981	5598207	227	5598039	273	7,41664
AE015451.1	25477	25706	230	25587	401	7,33825
AE015451.1	1101274	1101513	240	1101416	272	7,26336
AE015451.1	3748695	3749128	434	3748791	272	7,26336
AE015451.1	4466008	4466413	406	4466071	272	7,26336
AE015451.1	4485283	4485524	242	4485419	272	7,26336
AE015451.1	5711900	5712195	296	5712067	272	7,26336
AE015451.1	4921799	4922093	295	4921934	274	7,23738
AE015451.1	6157134	6157409	276	6157228	341	7,21816
AE015451.1	859545	859886	342	859693	300	7,13694
AE015451.1	3346222	3346506	285	3346377	279	7,12852
AE015451.1	1766516	1766904	389	1766754	271	7,11161
AE015451.1	1806016	1806312	297	1806158	271	7,11161
AE015451.1	2888469	2888784	316	2888602	271	7,11161
AE015451.1	5354229	5354553	325	5354427	271	7,11161
AE015451.1	5450541	5451125	585	5450660	271	7,11161
AE015451.1	470779	471019	241	470930	276	7,10565
AE015451.1	5544779	5544993	215	5544937	330	6,98678
AE015451.1	563024	563242	219	563149	303	6,95176
AE015451.1	219099	219348	250	219179	269	6,81273
AE015451.1	2051510	2051801	292	2051709	269	6,81273
AE015451.1	3554375	3554578	204	3554432	269	6,81273
AE015451.1	4743777	4744155	379	4743874	269	6,81273
AE015451.1	195488	195785	298	195745	328	6,68908
AE015451.1	4845018	4845357	340	4845095	268	6,66562
AE015451.1	5252994	5253498	505	5253173	268	6,66562
AE015451.1	6094898	6095237	340	6095069	274	6,66542
AE015451.1	144393	144592	200	144429	267	6,52005
AE015451.1	1582992	1583214	223	1583063	267	6,52005
AE015451.1	2373008	2373210	203	2373058	267	6,52005
AE015451.1	2831500	2831785	286	2831737	267	6,52005
AE015451.1	3153108	3153363	256	3153173	267	6,52005
AE015451.1	5465326	5465549	224	5465424	267	6,52005
AE015451.1	6079912	6080338	427	6080207	267	6,52005
AE015451.1	324332	324677	346	324406	266	6,37605
AE015451.1	4978484	4978734	251	4978587	285	6,34495
AE015451.1	383092	383497	406	383327	265	6,2336

AE015451.1	2711049	2711256	208	2711144	265	6,2336
AE015451.1	3756668	3757059	392	3756806	265	6,2336
AE015451.1	5740460	5740763	304	5740635	265	6,2336
AE015451.1	8307	8616	310	8516	285	6,15992
AE015451.1	2016029	2016486	458	2016316	264	6,09272
AE015451.1	548382	548686	305	548566	309	6,01211
AE015451.1	1179138	1179388	251	1179332	263	5,95341
AE015451.1	2841705	2842110	406	2841792	263	5,95341
AE015451.1	6176472	6176679	208	6176600	293	5,95233
AE015451.1	244132	244570	439	244339	262	5,81568
AE015451.1	968786	969021	236	968889	262	5,81568
AE015451.1	6126455	6126725	271	6126629	272	5,57723
AE015451.1	432943	433312	370	433101	260	5,54495
AE015451.1	1360733	1360986	254	1360828	260	5,54495
AE015451.1	1363126	1363330	205	1363234	260	5,54495
AE015451.1	3749385	3749598	214	3749493	260	5,54495
AE015451.1	4727410	4727721	312	4727556	260	5,54495
AE015451.1	4516824	4517039	216	4516870	312	5,32691
AE015451.1	554151	554503	353	554311	314	5,30938
AE015451.1	2040159	2040431	273	2040238	262	5,30632
AE015451.1	2942431	2942676	246	2942589	258	5,28058
AE015451.1	1485120	1485358	239	1485174	344	5,19408
AE015451.1	6112224	6112563	340	6112396	312	5,17353
AE015451.1	1786421	1786720	300	1786669	257	5,15079
AE015451.1	524853	525054	202	524986	1029	5,12387
AE015451.1	1029985	1030185	201	1030055	256	5,0226
AE015451.1	1311413	1311617	205	1311576	396	4,97989
AE015451.1	6019138	6019371	234	6019215	306	4,94781
AE015451.1	3089686	3089976	291	3089799	255	4,89601
AE015451.1	5477633	5477979	347	5477703	255	4,89601
AE015451.1	4309394	4309747	354	4309674	258	4,82776
AE015451.1	377236	377563	328	377419	254	4,77104
AE015451.1	932110	932309	200	932234	254	4,77104
AE015451.1	4874509	4874716	208	4874624	254	4,77104
AE015451.1	6079325	6079532	208	6079382	254	4,77104
AE015451.1	4926585	4926849	265	4926692	326	4,68781
AE015451.1	3126230	3126432	203	3126355	253	4,64768
AE015451.1	4602872	4603113	242	4602947	253	4,64768
AE015451.1	4521975	4522229	255	4522076	291	4,50006

AE015451.1	483175	483381
AE015451.1	934252	934584
AE015451.1	992930	993132
AE015451.1	6135834	6136097
AE015451.1	5534185	5534414
AE015451.1	2661387	2661658
AE015451.1	5168063	5168289
AE015451.1	974669	974877
AE015451.1	555781	556001

207	483265	294	4,49378
333	934446	250	4,28734
203	993054	249	4,17049
264	6135936	249	4,17049
230	5534291	369	4,08459
272	2661405	248	4,05526
227	5168128	247	3,94169
209	974816	242	3,39852
221	555821	287	3,22572

fold_enrichment	X.log10.qvalue.	name	rank
11,09774	3476,41528	subBAMS_peak_437	1
10,15481	3398,48218	subBAMS_peak_539	1
7,65588	1712,62024	subBAMS_peak_496	1
8,59642	1387,10437	subBAMS_peak_805	1
5,12232	1277,30078	subBAMS_peak_98	1
3,45362	706,72198	subBAMS_peak_793	1
5,8888	471,6741	subBAMS_peak_189	1
5,80167	458,61069	subBAMS_peak_509	1
5,45828	408,23013	subBAMS_peak_81	1
5,30966	386,99014	subBAMS_peak_60	1
5,1808	373,26978	subBAMS_peak_85	1
4,68723	356,06973	subBAMS_peak_758	1
4,25879	326,6918	subBAMS_peak_434	1
4,73564	308,33398	subBAMS_peak_863	1
4,3	252,56406	subBAMS_peak_234	1
2,88645	250,99861	subBAMS_peak_756	1
3,9204	249,33723	subBAMS_peak_592	1
4,26412	248,13518	subBAMS_peak_634	1
4,22825	243,73112	subBAMS_peak_379	1
4,16162	235,62297	subBAMS_peak_638	1
3,9771	218,03363	subBAMS_peak_372	1
3,44011	209,55075	subBAMS_peak_15	1
3,82849	196,48059	subBAMS_peak_393	1
3,81311	194,73253	subBAMS_peak_161	1
3,67986	179,80894	subBAMS_peak_283	1
3,66448	178,11356	subBAMS_peak_184	1
3,06587	170,08334	subBAMS_peak_521	1
2,93693	162,9781	subBAMS_peak_820	1
2,99696	140,76364	subBAMS_peak_227	1
2,73789	119,48479	subBAMS_peak_14	1
12,44479	2472,0752	subBAMS_peak_34	2
10,69502	1514,61548	subBAMS_peak_768	2
9,77815	1489,52515	subBAMS_peak_324	2
9,06228	1185,0697	subBAMS_peak_578	2
6,75791	948,04376	subBAMS_peak_825	2
7,39327	775,64807	subBAMS_peak_761	2
6,67251	624,89984	subBAMS_peak_209	2
5,83965	589,66479	subBAMS_peak_125	2

4,72114	498,28897	subBAMS_peak_213	2
3,71312	460,92941	subBAMS_peak_128	2
5,76067	452,50317	subBAMS_peak_534	2
4,49725	428,39008	subBAMS_peak_878	2
5,56079	423,08221	subBAMS_peak_284	2
5,52491	417,86432	subBAMS_peak_547	2
4,84856	379,55594	subBAMS_peak_25	2
4,54503	308,39316	subBAMS_peak_51	2
4,25672	269,58517	subBAMS_peak_168	2
3,96384	265,4747	subBAMS_peak_561	2
3,91869	259,43942	subBAMS_peak_296	2
3,85698	232,58421	subBAMS_peak_137	2
3,91399	224,11908	subBAMS_peak_408	2
2,79059	222,48206	subBAMS_peak_926	2
3,76845	221,16339	subBAMS_peak_91	2
4,01299	217,86867	subBAMS_peak_118	2
4,00274	216,66115	subBAMS_peak_395	2
3,99249	215,45593	subBAMS_peak_288	2
3,66972	197,52989	subBAMS_peak_30	2
3,30528	197,481	subBAMS_peak_13	2
2,93335	140,28113	subBAMS_peak_298	2
2,67501	131,83324	subBAMS_peak_628	2
2,70725	127,96012	subBAMS_peak_657	2
5,44245	1136,23291	subBAMS_peak_538	3
4,9092	541,9823	subBAMS_peak_777	3
5,14564	482,44162	subBAMS_peak_541	3
5,72829	463,39236	subBAMS_peak_913	3
4,86342	330,84644	subBAMS_peak_482	3
4,1167	247,82585	subBAMS_peak_371	3
3,26917	244,82245	subBAMS_peak_654	3
3,41335	151,20766	subBAMS_peak_844	3
3,30572	140,14731	subBAMS_peak_858	3
3,22372	131,91907	subBAMS_peak_1	3
3,19297	128,87848	subBAMS_peak_454	3
3,08534	118,43405	subBAMS_peak_701	3
3,06996	116,9679	subBAMS_peak_598	3
2,8903	114,62056	subBAMS_peak_260	3
2,62771	113,48425	subBAMS_peak_126	3
2,99309	109,73358	subBAMS_peak_766	3

2,62405	102,4203	subBAMS_peak_6	3
2,13083	101,07539	subBAMS_peak_345	3
2,09967	99,11691	subBAMS_peak_195	3
2,67533	81,65672	subBAMS_peak_536	3
2,6497	79,52766	subBAMS_peak_664	3
6,43852	2517,00952	subBAMS_peak_792	4
11,65022	2294,3938	subBAMS_peak_205	4
10,6105	2246,53833	subBAMS_peak_797	4
9,24727	2216,89819	subBAMS_peak_277	4
3,79816	953,19482	subBAMS_peak_123	4
5,89398	905,0188	subBAMS_peak_757	4
7,43297	828,32556	subBAMS_peak_359	4
6,84877	805,41974	subBAMS_peak_112	4
3,53197	788,46375	subBAMS_peak_392	4
5,87709	699,24005	subBAMS_peak_596	4
3,79904	659,07648	subBAMS_peak_927	4
4,00993	653,82758	subBAMS_peak_928	4
6,15583	630,59271	subBAMS_peak_426	4
4,57166	544,95416	subBAMS_peak_695	4
5,49972	523,4519	subBAMS_peak_385	4
3,97964	472,83475	subBAMS_peak_335	4
2,84429	431,57733	subBAMS_peak_206	4
4,65649	425,84311	subBAMS_peak_760	4
4,34216	415,36908	subBAMS_peak_882	4
5,21278	385,73196	subBAMS_peak_274	4
4,15249	345,73193	subBAMS_peak_174	4
4,73067	338,89178	subBAMS_peak_834	4
2,52444	320,03751	subBAMS_peak_97	4
4,61951	313,42026	subBAMS_peak_661	4
4,74589	309,68835	subBAMS_peak_253	4
4,74589	309,68835	subBAMS_peak_319	4
2,9429	293,2283	subBAMS_peak_611	4
4,42431	283,49683	subBAMS_peak_621	4
2,94321	279,27127	subBAMS_peak_352	4
3,79281	275,46188	subBAMS_peak_223	4
3,58698	274,99484	subBAMS_peak_214	4
4,27461	256,5589	subBAMS_peak_423	4
2,33821	255,38408	subBAMS_peak_788	4
3,58349	251,28162	subBAMS_peak_11	4

4,26412	248,13518	subBAMS_peak_485	4
3,37439	241,88406	subBAMS_peak_733	4
3,84383	235,03638	subBAMS_peak_519	4
3,71214	234,91673	subBAMS_peak_569	4
3,96021	231,10307	subBAMS_peak_144	4
3,5497	228,45445	subBAMS_peak_312	4
3,65137	227,83133	subBAMS_peak_650	4
4,08987	226,99356	subBAMS_peak_459	4
3,90444	217,83601	subBAMS_peak_111	4
3,32107	216,61819	subBAMS_peak_720	4
3,71016	215,38411	subBAMS_peak_557	4
3,42733	212,13037	subBAMS_peak_685	4
3,57523	210,68695	subBAMS_peak_543	4
2,68582	209,36926	subBAMS_peak_436	4
2,20468	208,44214	subBAMS_peak_42	4
3,11531	207,87775	subBAMS_peak_635	4
3,6844	207,26291	subBAMS_peak_506	4
2,85956	205,58267	subBAMS_peak_666	4
3,39828	204,30791	subBAMS_peak_822	4
2,90641	202,12727	subBAMS_peak_630	4
2,74182	198,01147	subBAMS_peak_669	4
3,13916	198,00908	subBAMS_peak_19	4
3,83361	197,06429	subBAMS_peak_446	4
3,43632	194,89583	subBAMS_peak_783	4
3,11999	194,04175	subBAMS_peak_503	4
3,63189	189,06079	subBAMS_peak_449	4
2,71379	187,88911	subBAMS_peak_936	4
3,46322	186,60402	subBAMS_peak_804	4
3,46788	185,09732	subBAMS_peak_916	4
2,75777	183,313	subBAMS_peak_516	4
3,55512	182,71118	subBAMS_peak_279	4
3,1964	180,47452	subBAMS_peak_435	4
2,55602	177,87366	subBAMS_peak_356	4
3,65423	176,98613	subBAMS_peak_233	4
3,64911	176,42326	subBAMS_peak_911	4
3,29128	175,51352	subBAMS_peak_590	4
3,63886	175,29913	subBAMS_peak_50	4
3,31816	174,92178	subBAMS_peak_248	4
2,97878	173,28867	subBAMS_peak_629	4

3,37867	172,23224	subBAMS_peak_531	4
2,68881	170,05804	subBAMS_peak_746	4
2,81399	168,48981	subBAMS_peak_890	4
3,01887	167,07848	subBAMS_peak_603	4
3,56198	166,94534	subBAMS_peak_365	4
3,55173	165,84201	subBAMS_peak_703	4
3,1943	164,89456	subBAMS_peak_653	4
3,19123	164,66589	subBAMS_peak_568	4
2,52473	164,49773	subBAMS_peak_440	4
3,13966	161,79631	subBAMS_peak_838	4
3,18414	161,27344	subBAMS_peak_560	4
2,68632	161,19989	subBAMS_peak_670	4
3,5056	160,91086	subBAMS_peak_774	4
3,39889	160,64113	subBAMS_peak_331	4
3,49023	159,27902	subBAMS_peak_410	4
3,29799	158,8157	subBAMS_peak_831	4
3,13796	158,46663	subBAMS_peak_44	4
2,48472	158,11841	subBAMS_peak_725	4
3,35119	157,77815	subBAMS_peak_923	4
3,30453	156,02644	subBAMS_peak_64	4
3,45435	155,49495	subBAMS_peak_461	4
3,37193	154,69331	subBAMS_peak_398	4
3,43898	153,88287	subBAMS_peak_257	4
1,89674	152,21481	subBAMS_peak_36	4
3,37235	146,96013	subBAMS_peak_203	4
3,2841	145,4877	subBAMS_peak_286	4
3,19052	144,5244	subBAMS_peak_652	4
3,3416	143,80223	subBAMS_peak_388	4
3,05031	140,9695	subBAMS_peak_124	4
3,26985	136,5265	subBAMS_peak_76	4
2,71335	136,39586	subBAMS_peak_502	4
2,99227	135,02171	subBAMS_peak_229	4
3,14359	134,60977	subBAMS_peak_259	4
3,17945	132,78035	subBAMS_peak_678	4
2,44893	131,65326	subBAMS_peak_655	4
2,15946	130,98692	subBAMS_peak_353	4
2,96635	130,82141	subBAMS_peak_136	4
3,20322	129,88924	subBAMS_peak_415	4
2,3609	129,62717	subBAMS_peak_196	4

2,42386	129,41716	subBAMS_peak_808	4
2,62796	127,01566	subBAMS_peak_721	4
3,16222	125,86263	subBAMS_peak_563	4
2,35684	125,51488	subBAMS_peak_728	4
3,15709	125,36236	subBAMS_peak_378	4
3,06358	123,74746	subBAMS_peak_65	4
3,13147	122,87246	subBAMS_peak_850	4
3,12634	122,37659	subBAMS_peak_281	4
3,12634	122,37659	subBAMS_peak_387	4
2,25676	122,14902	subBAMS_peak_127	4
3,12122	121,88132	subBAMS_peak_787	4
3,10527	121,15539	subBAMS_peak_575	4
2,55016	120,6956	subBAMS_peak_606	4
2,2455	120,2793	subBAMS_peak_667	4
3,07886	120,20146	subBAMS_peak_375	4
2,95021	119,86986	subBAMS_peak_83	4
3,08022	117,94464	subBAMS_peak_479	4
2,88487	116,91309	subBAMS_peak_70	4
3,06484	116,48062	subBAMS_peak_114	4
2,84057	115,90464	subBAMS_peak_507	4
2,52168	115,69277	subBAMS_peak_734	4
3,05459	115,5079	subBAMS_peak_256	4
2,07326	115,17297	subBAMS_peak_739	4
3,04434	114,53812	subBAMS_peak_215	4
3,03921	114,05424	subBAMS_peak_905	4
2,55697	113,57655	subBAMS_peak_18	4
2,94397	113,29679	subBAMS_peak_188	4
3,02896	113,08905	subBAMS_peak_390	4
2,58023	112,13711	subBAMS_peak_743	4
3,01359	111,6468	subBAMS_peak_691	4
2,57537	109,29108	subBAMS_peak_595	4
2,18834	107,56542	subBAMS_peak_647	4
2,79656	107,27672	subBAMS_peak_149	4
2,94696	105,47327	subBAMS_peak_800	4
2,94184	105,00349	subBAMS_peak_142	4
2,93159	104,06609	subBAMS_peak_466	4
2,93159	104,06609	subBAMS_peak_765	4
2,44852	103,31857	subBAMS_peak_604	4
2,92134	103,13201	subBAMS_peak_164	4

2,92134	103,13201	subBAMS_peak_588	4
2,91109	102,20115	subBAMS_peak_397	4
2,91109	102,20115	subBAMS_peak_692	4
2,90254	102,0787	subBAMS_peak_222	4
2,90596	101,7366	subBAMS_peak_544	4
2,04147	101,33775	subBAMS_peak_747	4
2,47342	101,19669	subBAMS_peak_8	4
2,32629	100,70198	subBAMS_peak_512	4
2,88546	99,88683	subBAMS_peak_659	4
2,49673	99,74503	subBAMS_peak_880	4
2,81298	99,7151	subBAMS_peak_589	4
2,85456	99,02877	subBAMS_peak_407	4
1,6481	98,91368	subBAMS_peak_39	4
2,44817	98,55403	subBAMS_peak_745	4
2,13363	97,46401	subBAMS_peak_694	4
2,78096	97,17445	subBAMS_peak_584	4
2,79588	96,87547	subBAMS_peak_186	4
2,42614	96,82856	subBAMS_peak_744	4
2,52555	95,92171	subBAMS_peak_515	4
2,83933	95,77061	subBAMS_peak_852	4
2,79706	95,10483	subBAMS_peak_617	4
2,54992	95,09145	subBAMS_peak_803	4
2,04062	93,39786	subBAMS_peak_518	4
2,80346	92,61282	subBAMS_peak_399	4
2,40192	91,88551	subBAMS_peak_742	4
2,78808	91,27126	subBAMS_peak_663	4
2,59521	91,15784	subBAMS_peak_899	4
2,34997	90,82686	subBAMS_peak_826	4
2,76316	90,23683	subBAMS_peak_74	4
2,06104	90,23244	subBAMS_peak_719	4
2,77271	89,93748	subBAMS_peak_658	4
2,76246	89,05212	subBAMS_peak_270	4
2,76246	89,05212	subBAMS_peak_773	4
2,75733	88,61069	subBAMS_peak_220	4
2,43278	88,38473	subBAMS_peak_779	4
2,75221	88,1699	subBAMS_peak_780	4
2,74196	87,29076	subBAMS_peak_94	4
2,73683	86,85256	subBAMS_peak_432	4
2,04137	86,4362	subBAMS_peak_343	4

2,70608	84,24009	subBAMS_peak_134	4
2,70608	84,24009	subBAMS_peak_201	4
2,70095	83,80737	subBAMS_peak_113	4
2,70095	83,80737	subBAMS_peak_553	4
2,31182	83,46815	subBAMS_peak_877	4
2,69583	83,37575	subBAMS_peak_181	4
2,69583	83,37575	subBAMS_peak_327	4
2,28553	83,19627	subBAMS_peak_10	4
2,59462	82,61191	subBAMS_peak_148	4
2,68558	82,51448	subBAMS_peak_363	4
2,68045	82,08512	subBAMS_peak_782	4
1,93322	80,02883	subBAMS_peak_341	4
2,65483	79,95177	subBAMS_peak_110	4
2,6497	79,52766	subBAMS_peak_892	4
2,64458	79,10442	subBAMS_peak_237	4
2,64458	79,10442	subBAMS_peak_246	4
2,64458	79,10442	subBAMS_peak_645	4
2,63433	78,26076	subBAMS_peak_370	4
2,45957	78,2112	subBAMS_peak_829	4
2,14352	78,10116	subBAMS_peak_717	4
2,61359	78,05664	subBAMS_peak_129	4
2,52089	77,92673	subBAMS_peak_4	4
2,49691	77,90189	subBAMS_peak_53	4
2,62408	77,42035	subBAMS_peak_463	4
2,18112	76,63713	subBAMS_peak_806	4
2,46348	76,58798	subBAMS_peak_69	4
2,61383	76,58328	subBAMS_peak_263	4
2,61383	76,58328	subBAMS_peak_677	4
2,58508	75,36128	subBAMS_peak_615	4
1,84993	75,16682	subBAMS_peak_740	4
2,5882	74,50478	subBAMS_peak_160	4
2,38383	74,41542	subBAMS_peak_591	4
2,48467	74,20251	subBAMS_peak_616	4
2,5538	74,12948	subBAMS_peak_75	4
2,58308	74,09182	subBAMS_peak_843	4
2,58308	74,09182	subBAMS_peak_944	4
1,87411	74,06861	subBAMS_peak_339	4
2,50661	73,79819	subBAMS_peak_680	4
2,57283	73,2682	subBAMS_peak_452	4

2,18793	73,23265 subBAMS_peak_607	4
2,04137	73,04974 subBAMS_peak_338	4
1,97377	72,73943 subBAMS_peak_668	4
2,18893	72,47543 subBAMS_peak_349	4
2,55232	71,63128 subBAMS_peak_80	4
2,55232	71,63128 subBAMS_peak_528	4
2,5472	71,22428 subBAMS_peak_240	4
2,5472	71,22428 subBAMS_peak_552	4
2,4456	70,9243 subBAMS_peak_139	4
2,54207	70,81802 subBAMS_peak_420	4
2,41964	70,74448 subBAMS_peak_169	4
2,52912	70,00894 subBAMS_peak_481	4
2,4659	69,66607 subBAMS_peak_918	4
2,5267	69,60446 subBAMS_peak_328	4
2,03479	69,22906 subBAMS_peak_631	4
2,52157	69,20185 subBAMS_peak_614	4
2,16265	68,9965 subBAMS_peak_504	4
2,01069	68,78149 subBAMS_peak_935	4
2,50202	68,74551 subBAMS_peak_374	4
2,4195	68,68056 subBAMS_peak_763	4
2,5062	67,99901 subBAMS_peak_190	4
2,50107	67,59995 subBAMS_peak_465	4
2,49595	67,20145 subBAMS_peak_580	4
2,4857	66,40743 subBAMS_peak_329	4
1,98147	66,14317 subBAMS_peak_937	4
2,4376	65,90984 subBAMS_peak_709	4
2,47545	65,61738 subBAMS_peak_550	4
2,47545	65,61738 subBAMS_peak_887	4
2,23723	65,37421 subBAMS_peak_609	4
2,47032	65,22371 subBAMS_peak_62	4
2,0189	64,9606 subBAMS_peak_513	4
1,90715	64,87953 subBAMS_peak_726	4
2,43757	64,86559 subBAMS_peak_697	4
2,46007	64,43906 subBAMS_peak_475	4
2,45495	64,04807 subBAMS_peak_197	4
2,28595	63,56029 subBAMS_peak_610	4
1,8484	63,22054 subBAMS_peak_755	4
2,43445	62,49284 subBAMS_peak_130	4
2,43445	62,49284 subBAMS_peak_409	4

2,42932	62,10617	subBAMS_peak_325	4
2,40012	61,7795	subBAMS_peak_66	4
2,4242	61,72044	subBAMS_peak_266	4
2,4242	61,72044	subBAMS_peak_499	4
2,24518	61,37146	subBAMS_peak_47	4
2,32092	60,89569	subBAMS_peak_299	4
2,24232	60,21394	subBAMS_peak_402	4
2,4037	60,1867	subBAMS_peak_396	4
2,4037	60,1867	subBAMS_peak_572	4
2,39857	59,80539	subBAMS_peak_165	4
2,39345	59,42507	subBAMS_peak_247	4
2,39345	59,42507	subBAMS_peak_567	4
2,38832	59,04572	subBAMS_peak_809	4
2,38319	58,66734	subBAMS_peak_320	4
2,23334	58,38363	subBAMS_peak_902	4
2,37807	58,28985	subBAMS_peak_119	4
2,37807	58,28985	subBAMS_peak_152	4
2,37807	58,28985	subBAMS_peak_316	4
1,98404	57,93502	subBAMS_peak_938	4
1,77713	57,74503	subBAMS_peak_600	4
2,2419	57,55697	subBAMS_peak_524	4
2,21004	57,15592	subBAMS_peak_228	4
2,13669	57,06432	subBAMS_peak_5	4
2,22677	57,03564	subBAMS_peak_89	4
1,75032	56,98384	subBAMS_peak_303	4
2,34219	55,67493	subBAMS_peak_326	4
1,93994	55,11551	subBAMS_peak_605	4
2,33194	54,93589	subBAMS_peak_16	4
1,49785	54,89222	subBAMS_peak_40	4
1,85767	54,53323	subBAMS_peak_351	4
2,29421	54,36582	subBAMS_peak_624	4
2,31657	53,83479	subBAMS_peak_292	4
1,92772	53,72163	subBAMS_peak_347	4
2,15836	53,47719	subBAMS_peak_523	4
2,30632	53,1054	subBAMS_peak_414	4
2,21617	52,80291	subBAMS_peak_888	4
2,30119	52,74217	subBAMS_peak_179	4
1,79235	52,45271	subBAMS_peak_748	4
2,23824	52,21675	subBAMS_peak_532	4

1,77815	52,11757	subBAMS_peak_194	4
2,27557	50,94121	subBAMS_peak_382	4
2,26019	49,87223	subBAMS_peak_362	4
2,26019	49,87223	subBAMS_peak_476	4
2,25507	49,51784	subBAMS_peak_564	4
1,68828	49,20002	subBAMS_peak_602	4
2,24994	49,16442	subBAMS_peak_872	4
1,79234	48,96275	subBAMS_peak_807	4
1,68798	48,91866	subBAMS_peak_612	4
2,24482	48,81196	subBAMS_peak_702	4
1,91244	48,70242	subBAMS_peak_741	4
1,83818	48,56794	subBAMS_peak_671	4
2,09517	48,37503	subBAMS_peak_106	4
1,9471	48,34636	subBAMS_peak_715	4
1,82908	47,98575	subBAMS_peak_498	4
2,11028	47,9692	subBAMS_peak_88	4
2,22432	47,41211	subBAMS_peak_163	4
2,22432	47,41211	subBAMS_peak_451	4
1,76419	47,3348	subBAMS_peak_750	4
2,21406	46,71806	subBAMS_peak_554	4
2,20381	46,02816	subBAMS_peak_636	4
1,76489	45,64624	subBAMS_peak_693	4
2,04542	45,53085	subBAMS_peak_828	4
1,63934	45,01836	subBAMS_peak_752	4
1,81029	44,99562	subBAMS_peak_778	4
1,82702	44,90131	subBAMS_peak_889	4
2,16377	44,77088	subBAMS_peak_893	4
2,18331	44,66026	subBAMS_peak_295	4
1,66027	44,60778	subBAMS_peak_718	4
2,16794	43,64464	subBAMS_peak_555	4
2,16794	43,64464	subBAMS_peak_818	4
1,68825	43,11917	subBAMS_peak_304	4
2,109	43,03447	subBAMS_peak_626	4
2,07881	42,95472	subBAMS_peak_101	4
2,15256	42,63816	subBAMS_peak_811	4
2,15256	42,63816	subBAMS_peak_867	4
2,14744	42,30467	subBAMS_peak_243	4
2,14744	42,30467	subBAMS_peak_493	4
2,14231	41,97218	subBAMS_peak_358	4

2,02156	41,80307 subBAMS_peak_313	4
1,78873	41,65766 subBAMS_peak_632	4
2,13719	41,64084 subBAMS_peak_239	4
2,13719	41,64084 subBAMS_peak_848	4
2,13206	41,31042 subBAMS_peak_525	4
2,04236	41,03827 subBAMS_peak_400	4
2,12694	40,98118 subBAMS_peak_212	4
2,12694	40,98118 subBAMS_peak_489	4
1,68614	39,97916 subBAMS_peak_344	4
1,91115	39,7285 subBAMS_peak_441	4
2,10644	39,67418 subBAMS_peak_264	4
2,10644	39,67418 subBAMS_peak_864	4
2,10131	39,34995 subBAMS_peak_903	4
1,60203	39,28913 subBAMS_peak_35	4
1,9164	39,21054 subBAMS_peak_931	4
1,87229	39,09787 subBAMS_peak_511	4
2,09619	39,02682 subBAMS_peak_140	4
2,09619	39,02682 subBAMS_peak_267	4
2,09619	39,02682 subBAMS_peak_676	4
1,59425	38,94913 subBAMS_peak_753	4
2,09106	38,70483 subBAMS_peak_207	4
2,00053	38,1063 subBAMS_peak_712	4
2,08081	38,06387 subBAMS_peak_219	4
2,08081	38,06387 subBAMS_peak_798	4
1,93277	37,99607 subBAMS_peak_784	4
2,07569	37,74506 subBAMS_peak_185	4
2,07569	37,74506 subBAMS_peak_925	4
2,07056	37,42726 subBAMS_peak_786	4
1,36504	37,38714 subBAMS_peak_38	4
2,03655	37,2425 subBAMS_peak_24	4
2,06544	37,11084 subBAMS_peak_429	4
1,80269	36,87166 subBAMS_peak_749	4
2,06031	36,79545 subBAMS_peak_242	4
1,9295	36,52863 subBAMS_peak_520	4
2,05519	36,48108 subBAMS_peak_61	4
2,05519	36,48108 subBAMS_peak_366	4
1,95149	36,33199 subBAMS_peak_68	4
2,05006	36,16773 subBAMS_peak_406	4
1,98688	35,87508 subBAMS_peak_405	4

2,04493	35,85543 subBAMS_peak_581	4
2,03981	35,54429 subBAMS_peak_330	4
2,03981	35,54429 subBAMS_peak_551	4
2,03981	35,54429 subBAMS_peak_836	4
1,38498	35,4552 subBAMS_peak_37	4
1,88518	34,95563 subBAMS_peak_425	4
2,02956	34,92525 subBAMS_peak_623	4
2,02956	34,92525 subBAMS_peak_642	4
1,90768	34,88813 subBAMS_peak_187	4
1,86135	34,87181 subBAMS_peak_883	4
2,02443	34,61734 subBAMS_peak_469	4
1,61219	34,58672 subBAMS_peak_302	4
2,01931	34,3104 subBAMS_peak_431	4
1,95334	34,06598 subBAMS_peak_332	4
2,01418	34,00468 subBAMS_peak_56	4
2,01418	34,00468 subBAMS_peak_586	4
2,01418	34,00468 subBAMS_peak_861	4
1,91814	33,99855 subBAMS_peak_556	4
1,91072	33,93258 subBAMS_peak_900	4
2,00906	33,7 subBAMS_peak_54	4
1,60883	33,59368 subBAMS_peak_336	4
2,00393	33,39649 subBAMS_peak_230	4
1,99881	33,09407 subBAMS_peak_772	4
1,90546	32,86559 subBAMS_peak_404	4
1,99368	32,79266 subBAMS_peak_460	4
1,99368	32,79266 subBAMS_peak_943	4
1,79264	32,74707 subBAMS_peak_736	4
1,98856	32,49248 subBAMS_peak_455	4
1,9788	32,40485 subBAMS_peak_884	4
1,76342	32,31651 subBAMS_peak_738	4
1,72873	32,25138 subBAMS_peak_716	4
1,98343	32,19328 subBAMS_peak_245	4
1,97831	31,89526 subBAMS_peak_258	4
1,97831	31,89526 subBAMS_peak_364	4
1,97318	31,59825 subBAMS_peak_480	4
1,65351	31,26582 subBAMS_peak_934	4
1,96293	31,00756 subBAMS_peak_427	4
1,87104	30,93589 subBAMS_peak_819	4
1,54205	30,7469 subBAMS_peak_754	4

1,95781	30,71395	subBAMS_peak_904	4
1,95268	30,4216	subBAMS_peak_293	4
1,95268	30,4216	subBAMS_peak_871	4
1,94756	30,13031	subBAMS_peak_131	4
1,94756	30,13031	subBAMS_peak_501	4
1,94756	30,13031	subBAMS_peak_574	4
1,88516	29,89574	subBAMS_peak_833	4
1,94243	29,84022	subBAMS_peak_133	4
1,94243	29,84022	subBAMS_peak_182	4
1,94243	29,84022	subBAMS_peak_321	4
1,70668	29,79054	subBAMS_peak_12	4
1,93731	29,55128	subBAMS_peak_291	4
1,93731	29,55128	subBAMS_peak_456	4
1,71677	29,48623	subBAMS_peak_827	4
1,87614	29,42078	subBAMS_peak_558	4
1,48467	29,33179	subBAMS_peak_354	4
1,93218	29,26351	subBAMS_peak_708	4
1,60942	29,21893	subBAMS_peak_305	4
1,81401	29,12622	subBAMS_peak_386	4
1,90659	28,94765	subBAMS_peak_261	4
1,92193	28,69143	subBAMS_peak_58	4
1,92193	28,69143	subBAMS_peak_276	4
1,92193	28,69143	subBAMS_peak_416	4
1,91681	28,40709	subBAMS_peak_473	4
1,91168	28,12414	subBAMS_peak_132	4
1,91168	28,12414	subBAMS_peak_254	4
1,91168	28,12414	subBAMS_peak_417	4
1,91168	28,12414	subBAMS_peak_500	4
1,88035	28,12414	subBAMS_peak_200	4
1,79745	27,82696	subBAMS_peak_824	4
1,6475	27,81489	subBAMS_peak_192	4
1,70576	27,75669	subBAMS_peak_881	4
1,90143	27,56158	subBAMS_peak_251	4
1,90143	27,56158	subBAMS_peak_252	4
1,90143	27,56158	subBAMS_peak_699	4
1,85306	27,50756	subBAMS_peak_875	4
1,75993	27,48653	subBAMS_peak_879	4
1,71407	27,47719	subBAMS_peak_17	4
1,89631	27,28201	subBAMS_peak_162	4

1,89118	27,00382	subBAMS_peak_813	4
1,88606	26,72673	subBAMS_peak_82	4
1,88606	26,72673	subBAMS_peak_153	4
1,88093	26,45092	subBAMS_peak_705	4
1,87085	26,39778	subBAMS_peak_583	4
1,83767	25,85131	subBAMS_peak_86	4
1,86555	25,63013	subBAMS_peak_690	4
1,4518	25,48365	subBAMS_peak_355	4
1,80882	25,47137	subBAMS_peak_625	4
1,75788	25,36838	subBAMS_peak_105	4
1,86043	25,35875	subBAMS_peak_67	4
1,86043	25,35875	subBAMS_peak_322	4
1,77795	25,3458	subBAMS_peak_20	4
1,77656	25,22373	subBAMS_peak_731	4
1,8553	25,08856	subBAMS_peak_180	4
1,69114	24,97584	subBAMS_peak_495	4
1,85018	24,81956	subBAMS_peak_218	4
1,82386	24,6296	subBAMS_peak_915	4
1,84505	24,55166	subBAMS_peak_537	4
1,57634	24,51238	subBAMS_peak_334	4
1,724	24,34333	subBAMS_peak_7	4
1,83993	24,28503	subBAMS_peak_688	4
1,81307	24,19342	subBAMS_peak_675	4
1,46401	23,64047	subBAMS_peak_340	4
1,77308	23,58679	subBAMS_peak_52	4
1,82455	23,49185	subBAMS_peak_262	4
1,70823	23,28681	subBAMS_peak_542	4
1,81943	23,2299	subBAMS_peak_294	4
1,80412	23,20586	subBAMS_peak_450	4
1,8143	22,96901	subBAMS_peak_594	4
1,8143	22,96901	subBAMS_peak_776	4
1,65725	22,72807	subBAMS_peak_597	4
1,80405	22,45099	subBAMS_peak_157	4
1,80405	22,45099	subBAMS_peak_412	4
1,7824	22,41231	subBAMS_peak_31	4
1,72998	22,16456	subBAMS_peak_840	4
1,5758	21,99823	subBAMS_peak_348	4
1,74371	21,96123	subBAMS_peak_401	4
1,7938	21,93794	subBAMS_peak_120	4

1,7938	21,93794 subBAMS_peak_856	4
1,66188	21,81686 subBAMS_peak_933	4
1,78868	21,68313 subBAMS_peak_59	4
1,78868	21,68313 subBAMS_peak_689	4
1,78868	21,68313 subBAMS_peak_789	4
1,78868	21,68313 subBAMS_peak_846	4
1,7634	21,60691 subBAMS_peak_278	4
1,78355	21,42964 subBAMS_peak_2	4
1,47124	21,21593 subBAMS_peak_439	4
1,77843	21,17736 subBAMS_peak_430	4
1,55152	21,17736 subBAMS_peak_656	4
1,75973	21,11642 subBAMS_peak_447	4
1,7733	20,92637 subBAMS_peak_847	4
1,62291	20,85865 subBAMS_peak_724	4
1,76818	20,67664 subBAMS_peak_122	4
1,76818	20,67664 subBAMS_peak_389	4
1,67478	20,56852 subBAMS_peak_576	4
1,74064	20,49483 subBAMS_peak_919	4
1,62564	20,37822 subBAMS_peak_735	4
1,70556	20,34753 subBAMS_peak_620	4
1,75793	20,18105 subBAMS_peak_477	4
1,75793	20,18105 subBAMS_peak_897	4
1,7528	19,93501 subBAMS_peak_487	4
1,7528	19,93501 subBAMS_peak_494	4
1,66259	19,80145 subBAMS_peak_723	4
1,74768	19,69028 subBAMS_peak_216	4
1,48204	19,54588 subBAMS_peak_357	4
1,74255	19,44697 subBAMS_peak_376	4
1,74255	19,44697 subBAMS_peak_391	4
1,57742	19,36521 subBAMS_peak_350	4
1,73743	19,20483 subBAMS_peak_492	4
1,72465	19,12174 subBAMS_peak_530	4
1,69211	19,04029 subBAMS_peak_29	4
1,7323	18,96388 subBAMS_peak_217	4
1,7323	18,96388 subBAMS_peak_641	4
1,72718	18,72417 subBAMS_peak_898	4
1,72205	18,48577 subBAMS_peak_573	4
1,72205	18,48577 subBAMS_peak_622	4
1,44121	18,48272 subBAMS_peak_337	4

1,71693	18,24858 subBAMS_peak_369	4
1,7118	18,01266 subBAMS_peak_32	4
1,7118	18,01266 subBAMS_peak_272	4
1,7118	18,01266 subBAMS_peak_468	4
1,38889	17,93791 subBAMS_peak_601	4
1,40817	17,80561 subBAMS_peak_751	4
1,70667	17,77798 subBAMS_peak_841	4
1,58666	17,67047 subBAMS_peak_627	4
1,70155	17,54458 subBAMS_peak_208	4
1,70155	17,54458 subBAMS_peak_508	4
1,46909	17,46603 subBAMS_peak_301	4
1,44028	17,41924 subBAMS_peak_342	4
1,69642	17,31256 subBAMS_peak_639	4
1,69642	17,31256 subBAMS_peak_707	4
1,64845	17,21023 subBAMS_peak_762	4
1,6913	17,08177 subBAMS_peak_27	4
1,6913	17,08177 subBAMS_peak_155	4
1,6913	17,08177 subBAMS_peak_419	4
1,6913	17,08177 subBAMS_peak_593	4
1,6913	17,08177 subBAMS_peak_682	4
1,68617	16,85238 subBAMS_peak_384	4
1,68617	16,85238 subBAMS_peak_464	4
1,68617	16,85238 subBAMS_peak_644	4
1,68105	16,62418 subBAMS_peak_790	4
1,67167	16,59209 subBAMS_peak_909	4
1,67592	16,39734 subBAMS_peak_418	4
1,67592	16,39734 subBAMS_peak_855	4
1,67592	16,39734 subBAMS_peak_874	4
1,67592	16,39734 subBAMS_peak_910	4
1,66919	16,35942 subBAMS_peak_860	4
1,64164	16,35857 subBAMS_peak_28	4
1,66717	16,28864 subBAMS_peak_914	4
1,6708	16,17181 subBAMS_peak_183	4
1,6708	16,17181 subBAMS_peak_250	4
1,6708	16,17181 subBAMS_peak_510	4
1,6708	16,17181 subBAMS_peak_565	4
1,6708	16,17181 subBAMS_peak_579	4
1,6708	16,17181 subBAMS_peak_869	4
1,54621	16,14343 subBAMS_peak_522	4

1,61882	15,95398 subBAMS_peak_769	4
1,66055	15,72496 subBAMS_peak_143	4
1,66055	15,72496 subBAMS_peak_411	4
1,66055	15,72496 subBAMS_peak_613	4
1,3959	15,7045 subBAMS_peak_517	4
1,64819	15,5822 subBAMS_peak_95	4
1,65542	15,50336 subBAMS_peak_221	4
1,65542	15,50336 subBAMS_peak_873	4
1,65471	15,48041 subBAMS_peak_199	4
1,65205	15,43652 subBAMS_peak_854	4
1,64414	15,25993 subBAMS_peak_672	4
1,59342	15,08771 subBAMS_peak_360	4
1,64517	15,06452 subBAMS_peak_255	4
1,2615	15,03653 subBAMS_peak_41	4
1,64005	14,84689 subBAMS_peak_170	4
1,64005	14,84689 subBAMS_peak_323	4
1,64005	14,84689 subBAMS_peak_394	4
1,64005	14,84689 subBAMS_peak_791	4
1,60656	14,69855 subBAMS_peak_135	4
1,61259	14,65679 subBAMS_peak_226	4
1,63492	14,63059 subBAMS_peak_92	4
1,63492	14,63059 subBAMS_peak_801	4
1,6298	14,41561 subBAMS_peak_566	4
1,6298	14,41561 subBAMS_peak_866	4
1,55491	14,39803 subBAMS_peak_608	4
1,62467	14,2019 subBAMS_peak_249	4
1,62467	14,2019 subBAMS_peak_599	4
1,62467	14,2019 subBAMS_peak_862	4
1,59735	14,16844 subBAMS_peak_333	4
1,53323	14,15237 subBAMS_peak_686	4
1,61226	14,04903 subBAMS_peak_275	4
1,61955	13,98958 subBAMS_peak_235	4
1,60197	13,82985 subBAMS_peak_559	4
1,6093	13,56907 subBAMS_peak_529	4
1,60065	13,37119 subBAMS_peak_582	4
1,60417	13,36076 subBAMS_peak_290	4
1,60417	13,36076 subBAMS_peak_771	4
1,59905	13,15396 subBAMS_peak_191	4
1,59905	13,15396 subBAMS_peak_845	4

1,51815	12,95525 subBAMS_peak_839	4
1,59392	12,94842 subBAMS_peak_700	4
1,58516	12,90853 subBAMS_peak_921	4
1,57698	12,75928 subBAMS_peak_166	4
1,5888	12,7443 subBAMS_peak_684	4
1,55268	12,73931 subBAMS_peak_895	4
1,58367	12,54157 subBAMS_peak_373	4
1,58367	12,54157 subBAMS_peak_448	4
1,58367	12,54157 subBAMS_peak_490	4
1,5334	12,53023 subBAMS_peak_403	4
1,46267	12,48158 subBAMS_peak_737	4
1,38516	12,43018 subBAMS_peak_193	4
1,51355	12,42163 subBAMS_peak_46	4
1,53901	12,37565 subBAMS_peak_941	4
1,57855	12,34027 subBAMS_peak_428	4
1,57855	12,34027 subBAMS_peak_470	4
1,57855	12,34027 subBAMS_peak_810	4
1,57855	12,34027 subBAMS_peak_885	4
1,35211	12,26325 subBAMS_peak_99	4
1,48866	12,21344 subBAMS_peak_577	4
1,57342	12,14028 subBAMS_peak_198	4
1,57342	12,14028 subBAMS_peak_681	4
1,39902	12,02992 subBAMS_peak_696	4
1,5683	11,94166 subBAMS_peak_764	4
1,5683	11,94166 subBAMS_peak_835	4
1,5683	11,94166 subBAMS_peak_891	4
1,55602	11,89352 subBAMS_peak_280	4
1,56317	11,74441 subBAMS_peak_22	4
1,53569	11,56245 subBAMS_peak_310	4
1,50825	11,55008 subBAMS_peak_87	4
1,55805	11,54849 subBAMS_peak_238	4
1,55805	11,54849 subBAMS_peak_368	4
1,55805	11,54849 subBAMS_peak_443	4
1,55805	11,54849 subBAMS_peak_505	4
1,55805	11,54849 subBAMS_peak_570	4
1,35498	11,38711 subBAMS_peak_346	4
1,55292	11,35395 subBAMS_peak_300	4
1,55292	11,35395 subBAMS_peak_526	4
1,55292	11,35395 subBAMS_peak_796	4

1,5478	11,16084 subBAMS_peak_23	4
1,5478	11,16084 subBAMS_peak_361	4
1,5478	11,16084 subBAMS_peak_383	4
1,5478	11,16084 subBAMS_peak_486	4
1,5478	11,16084 subBAMS_peak_571	4
1,5478	11,16084 subBAMS_peak_662	4
1,5478	11,16084 subBAMS_peak_842	4
1,54267	10,96928 subBAMS_peak_815	4
1,53337	10,86257 subBAMS_peak_832	4
1,45947	10,8584 subBAMS_peak_225	4
1,52341	10,79408 subBAMS_peak_896	4
1,53754	10,77909 subBAMS_peak_244	4
1,53754	10,77909 subBAMS_peak_317	4
1,53754	10,77909 subBAMS_peak_817	4
1,47035	10,71571 subBAMS_peak_297	4
1,51172	10,65963 subBAMS_peak_585	4
1,32294	10,64033 subBAMS_peak_438	4
1,53242	10,59026 subBAMS_peak_156	4
1,53242	10,59026 subBAMS_peak_377	4
1,51182	10,53273 subBAMS_peak_674	4
1,52729	10,40283 subBAMS_peak_483	4
1,52729	10,40283 subBAMS_peak_619	4
1,52729	10,40283 subBAMS_peak_865	4
1,52729	10,40283 subBAMS_peak_906	4
1,43817	10,39211 subBAMS_peak_311	4
1,39977	10,38543 subBAMS_peak_732	4
1,52217	10,21695 subBAMS_peak_78	4
1,52217	10,21695 subBAMS_peak_117	4
1,52217	10,21695 subBAMS_peak_145	4
1,52217	10,21695 subBAMS_peak_533	4
1,52217	10,21695 subBAMS_peak_587	4
1,50282	10,1892 subBAMS_peak_679	4
1,49788	10,16182 subBAMS_peak_648	4
1,51704	10,03244 subBAMS_peak_172	4
1,51704	10,03244 subBAMS_peak_799	4
1,51704	10,03244 subBAMS_peak_886	4
1,42867	9,99101 subBAMS_peak_876	4
1,49247	9,96264 subBAMS_peak_894	4
1,46719	9,92414 subBAMS_peak_802	4

1,51176	9,91045 subBAMS_peak_49	4
1,51192	9,84948 subBAMS_peak_79	4
1,51192	9,84948 subBAMS_peak_315	4
1,51192	9,84948 subBAMS_peak_633	4
1,51192	9,84948 subBAMS_peak_640	4
1,49651	9,83919 subBAMS_peak_939	4
1,48138	9,67946 subBAMS_peak_109	4
1,50679	9,6679 subBAMS_peak_268	4
1,50679	9,6679 subBAMS_peak_660	4
1,50679	9,6679 subBAMS_peak_942	4
1,50167	9,48788 subBAMS_peak_859	4
1,49381	9,44832 subBAMS_peak_287	4
1,47182	9,32765 subBAMS_peak_711	4
1,45708	9,31888 subBAMS_peak_26	4
1,49142	9,13218 subBAMS_peak_308	4
1,49142	9,13218 subBAMS_peak_637	4
1,49142	9,13218 subBAMS_peak_767	4
1,49142	9,13218 subBAMS_peak_775	4
1,49142	9,13218 subBAMS_peak_853	4
1,49142	9,13218 subBAMS_peak_868	4
1,48629	8,95648 subBAMS_peak_849	4
1,38573	8,82493 subBAMS_peak_173	4
1,48117	8,7821 subBAMS_peak_21	4
1,48117	8,7821 subBAMS_peak_282	4
1,48117	8,7821 subBAMS_peak_794	4
1,30176	8,61378 subBAMS_peak_727	4
1,46063	8,57189 subBAMS_peak_673	4
1,47074	8,49065 subBAMS_peak_202	4
1,3838	8,46312 subBAMS_peak_930	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_93	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_175	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_176	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_178	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_421	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_444	4
1,47092	8,43779 subBAMS_peak_870	4
1,30285	8,42827 subBAMS_peak_929	4
1,46579	8,26796 subBAMS_peak_57	4
1,46579	8,26796 subBAMS_peak_73	4

1,46579	8,26796 subBAMS_peak_471	4
1,46579	8,26796 subBAMS_peak_484	4
1,3726	8,16857 subBAMS_peak_424	4
1,4351	8,14651 subBAMS_peak_730	4
1,46067	8,09958 subBAMS_peak_380	4
1,46067	8,09958 subBAMS_peak_920	4
1,3776	7,90108 subBAMS_peak_714	4
1,35996	7,89347 subBAMS_peak_759	4
1,37805	7,81424 subBAMS_peak_722	4
1,42595	7,80484 subBAMS_peak_830	4
1,45042	7,76712 subBAMS_peak_116	4
1,45042	7,76712 subBAMS_peak_236	4
1,30349	7,75262 subBAMS_peak_497	4
1,44529	7,60309 subBAMS_peak_159	4
1,44529	7,60309 subBAMS_peak_285	4
1,44529	7,60309 subBAMS_peak_706	4
1,44017	7,44055 subBAMS_peak_488	4
1,44017	7,44055 subBAMS_peak_562	4
1,31651	7,39009 subBAMS_peak_100	4
1,43504	7,27958 subBAMS_peak_231	4
1,43504	7,27958 subBAMS_peak_232	4
1,43504	7,27958 subBAMS_peak_289	4
1,42992	7,12005 subBAMS_peak_309	4
1,42992	7,12005 subBAMS_peak_457	4
1,42992	7,12005 subBAMS_peak_478	4
1,42992	7,12005 subBAMS_peak_548	4
1,41078	7,09108 subBAMS_peak_108	4
1,37652	7,05674 subBAMS_peak_540	4
1,41657	7,03596 subBAMS_peak_306	4
1,42151	6,9743 subBAMS_peak_381	4
1,42479	6,96196 subBAMS_peak_462	4
1,4049	6,83842 subBAMS_peak_43	4
1,41967	6,80549 subBAMS_peak_433	4
1,30704	6,79486 subBAMS_peak_514	4
1,41454	6,65059 subBAMS_peak_141	4
1,41454	6,65059 subBAMS_peak_535	4
1,40942	6,49725 subBAMS_peak_121	4
1,40942	6,49725 subBAMS_peak_171	4
1,40429	6,34535 subBAMS_peak_115	4

1,40429	6,34535 subBAMS_peak_271	4
1,40429	6,34535 subBAMS_peak_785	4
1,40429	6,34535 subBAMS_peak_837	4
1,31847	6,26912 subBAMS_peak_9	4
1,39917	6,19501 subBAMS_peak_167	4
1,39917	6,19501 subBAMS_peak_545	4
1,39917	6,19501 subBAMS_peak_643	4
1,39917	6,19501 subBAMS_peak_646	4
1,39917	6,19501 subBAMS_peak_851	4
1,39636	6,17073 subBAMS_peak_710	4
1,34667	6,15172 subBAMS_peak_932	4
1,37142	6,07137 subBAMS_peak_138	4
1,38779	6,06305 subBAMS_peak_491	4
1,39404	6,04632 subBAMS_peak_265	4
1,39404	6,04632 subBAMS_peak_273	4
1,39404	6,04632 subBAMS_peak_453	4
1,39404	6,04632 subBAMS_peak_795	4
1,39404	6,04632 subBAMS_peak_812	4
1,38945	6,04178 subBAMS_peak_84	4
1,34553	5,92422 subBAMS_peak_823	4
1,36237	5,89095 subBAMS_peak_107	4
1,38379	5,75345 subBAMS_peak_48	4
1,38379	5,75345 subBAMS_peak_318	4
1,38379	5,75345 subBAMS_peak_527	4
1,38379	5,75345 subBAMS_peak_687	4
1,33631	5,63252 subBAMS_peak_45	4
1,37867	5,60931 subBAMS_peak_698	4
1,37867	5,60931 subBAMS_peak_781	4
1,37363	5,60931 subBAMS_peak_912	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_33	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_241	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_367	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_442	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_474	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_814	4
1,37354	5,46684 subBAMS_peak_908	4
1,36841	5,32591 subBAMS_peak_63	4
1,35225	5,29658 subBAMS_peak_729	4
1,36329	5,18651 subBAMS_peak_72	4

1,36329	5,18651 subBAMS_peak_422	4
1,36329	5,18651 subBAMS_peak_549	4
1,36329	5,18651 subBAMS_peak_857	4
1,34487	5,11523 subBAMS_peak_3	4
1,35816	5,04879 subBAMS_peak_307	4
1,32309	4,97082 subBAMS_peak_102	4
1,35304	4,91281 subBAMS_peak_177	4
1,35304	4,91281 subBAMS_peak_445	4
1,33104	4,91281 subBAMS_peak_940	4
1,34791	4,77829 subBAMS_peak_55	4
1,34791	4,77829 subBAMS_peak_150	4
1,33015	4,54597 subBAMS_peak_922	4
1,33766	4,51411 subBAMS_peak_77	4
1,33766	4,51411 subBAMS_peak_210	4
1,33766	4,51411 subBAMS_peak_211	4
1,33766	4,51411 subBAMS_peak_546	4
1,33766	4,51411 subBAMS_peak_683	4
1,29478	4,30181 subBAMS_peak_649	4
1,293	4,28449 subBAMS_peak_103	4
1,3256	4,28147 subBAMS_peak_314	4
1,32741	4,25602 subBAMS_peak_458	4
1,27363	4,17219 subBAMS_peak_224	4
1,2887	4,15189 subBAMS_peak_917	4
1,32229	4,12943 subBAMS_peak_269	4
1,14704	4,10449 subBAMS_peak_96	4
1,31716	4,00448 subBAMS_peak_158	4
1,24506	3,96404 subBAMS_peak_204	4
1,2828	3,93239 subBAMS_peak_901	4
1,31204	3,88123 subBAMS_peak_467	4
1,31204	3,88123 subBAMS_peak_816	4
1,30676	3,81558 subBAMS_peak_618	4
1,30691	3,75963 subBAMS_peak_71	4
1,30691	3,75963 subBAMS_peak_146	4
1,30691	3,75963 subBAMS_peak_704	4
1,30691	3,75963 subBAMS_peak_907	4
1,26235	3,67911 subBAMS_peak_713	4
1,30179	3,6395 subBAMS_peak_472	4
1,30179	3,6395 subBAMS_peak_665	4
1,27189	3,49714 subBAMS_peak_651	4

1,27002	3,49095 subBAMS_peak_90	4
1,28641	3,28896 subBAMS_peak_147	4
1,28129	3,17542 subBAMS_peak_154	4
1,28129	3,17542 subBAMS_peak_924	4
1,22161	3,09244 subBAMS_peak_821	4
1,27616	3,06358 subBAMS_peak_413	4
1,27104	2,95333 subBAMS_peak_770	4
1,24541	2,42749 subBAMS_peak_151	4
1,21447	2,26115 subBAMS_peak_104	4

Putative Metabolites

Note

ID	HMT DB [†]			m/z	MT	A-WT (fum+OAA) exp		D-WT (OAA)	
	Compound name	KEGG ID	HMDB ID			A1	A2	D1	D2
C_0060	Glu	C00025,C00217	HMDB00148,HN	148,060	10,97	5,5E-04	1,7E-03	1,1E-01	1,1E-01
C_0065	Ala-Ala	C00993	HMDB03459	161,092	9,25	N.D.	9,6E-05	1,0E-03	9,6E-04
C_0059	Lys	C00047,C00739	HMDB00182,HN	147,112	6,84	3,1E-04	3,8E-04	9,1E-03	3,5E-03
C_0032	Thr	C00188,C00820	HMDB00167	120,065	10,53	1,2E-04	1,9E-04	4,6E-03	3,0E-03
C_0069	Phe	C00079,C02057	HMDB00159	166,085	11,11	1,5E-04	2,1E-04	1,9E-03	2,1E-03
A_0109	NAD ⁺	C00003	HMDB00902	662,102	6,56	2,3E-04	9,6E-04	7,0E-03	5,0E-03
C_0047	Ornithine	C00077,C00515	HMDB00214,HN	133,096	6,78	8,2E-05	1,7E-04	1,7E-03	4,7E-04
C_0074	Tyr	C00082,C01536	HMDB00158	182,080	11,38	1,2E-04	2,2E-04	1,1E-03	7,7E-04
A_0107	UDP-N-acetylgluc	C00043	HMDB00290	606,074	8,41	8,9E-05	3,1E-04	1,5E-03	1,1E-03
A_0102	ATP	C00002	HMDB00538	505,988	11,63	4,9E-04	2,0E-03	1,1E-02	9,7E-03
C_0014	1-Aminocycloprop	C01234 <input type="checkbox"/> No ID	No ID <input type="checkbox"/> No ID	102,055	7,04	7,6E-05	7,9E-05	1,9E-04	2,1E-04
A_0086	dTDP	C00363	HMDB01274	401,014	11,16	4,0E-05	1,4E-04	3,6E-04	2,9E-04
A_0105	UDP-glucose <input type="checkbox"/> UDF	C00029 <input type="checkbox"/> C00005	HMDB00286 <input type="checkbox"/> H	565,047	8,56	7,4E-05	2,1E-04	3,7E-04	6,3E-04
A_0100	UTP	C00075	HMDB00285	482,960	12,39	9,0E-05	3,7E-04	1,6E-03	1,3E-03
A_0022	5-Oxoproline	C01879	HMDB00267	128,035	9,40	1,3E-04	2,0E-04	8,4E-04	5,9E-04
A_0098	dTTP	C00459	HMDB01342	480,980	11,96	N.D.	7,1E-05	3,5E-04	2,9E-04
A_0104	ADP-ribose	C00301	HMDB01178	558,064	8,44	N.D.	8,8E-05	2,3E-03	5,8E-04
C_0008	Ala	C00041,C00133	HMDB00161,HN	90,055	9,03	6,6E-04	1,2E-03	6,8E-03	5,4E-03
C_0022	Ser	C00065,C00716	HMDB00187,HN	106,050	10,00	3,7E-04	4,2E-04	3,5E-03	2,8E-03

C_0073	Citrulline	C00327	HMDB00904	176,102	11,08	1,6E-04	4,1E-04	1,6E-03	1,3E-03
C_0013	Cyclohexylamine	C00571	No ID	100,112	7,67	9,1E-05	8,9E-04	1,7E-04	2,4E-04
C_0067	2-Aminoadipic acid	C00956	HMDB00510	162,076	10,91	N.D.	7,2E-05	N.D.	1,6E-04
C_0050	Adenine	C00147	HMDB00034	136,061	7,60	6,5E-05	1,7E-04	3,0E-03	1,2E-03
C_0038	Nicotinamide	C00153	HMDB01406	123,055	7,37	6,7E-04	1,5E-03	1,4E-02	1,8E-02
A_0099	CTP	C00063	HMDB00082	481,976	12,19	N.D.	1,4E-04	5,7E-04	5,5E-04
C_0027	Pro	C00148,C00763	HMDB00162,HM	116,071	10,82	1,8E-04	2,5E-04	4,6E-03	3,3E-03
C_0006	Piperidine	C01746	No ID	86,096	6,94	N.D.	6,9E-05	N.D.	8,0E-05
C_0090	5'-Deoxy-5'-methyl	C00170	HMDB01173	298,096	10,10	2,8E-04	3,0E-04	1,7E-03	2,4E-03
A_0081	NADPH_divalent	C00005	HMDB00221	371,537	11,01	N.D.	4,8E-05	N.D.	3,7E-04
C_0064	His	C00135,C00768	HMDB00177	156,076	7,27	5,8E-05	1,2E-04	6,4E-04	2,2E-04
C_0029	Val	C00183,C06417	HMDB00883	118,086	10,02	3,5E-04	7,4E-04	6,9E-03	4,6E-03
A_0045	Glycerol 3-phosph	C00093	HMDB00126	171,005	11,95	8,6E-05	2,3E-04	5,5E-04	1,2E-03
A_0089	Acetyl CoA_divalent	C00024	HMDB01206	403,554	10,15	2,8E-04	1,5E-03	8,0E-04	2,8E-04
A_0087	CDP	C00112	HMDB01546	402,009	11,31	7,2E-05	2,7E-04	5,4E-04	4,7E-04
C_0005	Gly	C00037	HMDB00123	76,039	8,30	4,1E-04	5,8E-04	1,1E-02	7,4E-03
A_0072	CMP	C00055	HMDB00095	322,043	9,50	7,0E-05	2,6E-04	1,5E-03	6,9E-04
A_0094	ADP	C00008	HMDB01341	426,021	10,74	1,3E-03	4,1E-03	8,7E-03	8,4E-03
A_0066	Glucose 6-phosphat	C00668,C01172	HMDB01401	259,021	9,75	N.D.	2,4E-04	1,3E-03	9,0E-04
C_0033	Homoserine	C00263	HMDB00719	120,065	10,09	1,3E-04	1,6E-04	2,5E-03	1,7E-03
A_0088	UDP	C00015	HMDB00295	402,993	11,48	1,4E-04	6,9E-04	1,4E-03	1,1E-03
C_0095	S-Adenosylhomocy:	C00021	HMDB00939	385,127	8,73	N.D.	5,0E-05	1,3E-04	9,6E-05
A_0071	dTMP	C00364	HMDB01227	321,048	9,45	3,8E-05	1,2E-04	9,0E-04	9,1E-05

C_0044	Leu	C00123,C01570	HMDB00687	132,101	10,33	3,5E-04	7,2E-04	4,7E-03	3,2E-03
A_0078	AMP	C00020	HMDB00045	346,054	9,19	8,4E-04	3,6E-03	4,2E-03	2,1E-03
C_0036	2-Amino-2-(hydroxy	C07182	No ID	122,081	8,30	N.D.	1,5E-04	4,1E-04	7,8E-04
A_0090	dADP	C00206	HMDB01508	410,025	10,85	4,6E-05	1,8E-04	4,2E-04	3,1E-04
A_0103	GTP	C00044	HMDB01273	521,983	11,32	N.D.	2,7E-04	5,7E-04	6,0E-04
A_0092	Thiamine diphospha	C00068	HMDB01372	423,028	7,90	4,8E-05	1,5E-04	2,3E-04	2,2E-04
C_0061	Met	C00073,C00855	HMDB00696	150,057	10,74	9,4E-05	N.D.	6,3E-04	4,5E-04
C_0043	Ile	C00407,C06418	HMDB00172	132,101	10,22	2,0E-04	3,1E-04	2,0E-03	1,2E-03
A_0073	UMP	C00105	HMDB00288	323,027	9,68	1,1E-04	5,0E-04	1,3E-03	2,8E-04
A_0101	dATP	C00131	HMDB01532	489,992	11,58	N.D.	1,2E-04	4,9E-04	3,8E-04
A_0110	NADP ⁺	C00006	HMDB00217	742,070	9,30	2,1E-04	8,0E-04	1,4E-03	5,5E-04
A_0063	Glucosamine 6-phos	C00352	HMDB01254	258,037	8,80	N.D.	6,7E-05	3,4E-04	8,3E-05
A_0016	4-Oxovaleric acid	No ID	HMDB00720	115,039	9,63	3,6E-04	3,3E-04	1,6E-03	7,8E-04
A_0032	6-Hydroxynicotinic a	C01020	HMDB02658	138,018	9,31	N.D.	5,2E-05	4,2E-04	1,7E-04
A_0018	Succinic acid	C00042	HMDB00254	117,019	20,46	3,0E-04	5,0E-04	1,1E-03	1,1E-03
A_0080	GMP	C00144	HMDB01397	362,049	9,07	6,8E-05	2,3E-04	1,6E-04	9,2E-05
A_0027	2-Hydroxy-4-methyl	C03264	HMDB00624	131,070	8,82	3,6E-05	4,5E-05	1,5E-04	8,7E-05
A_0065	Fructose 6-phospha	C05345,C00085	HMDB00124	259,021	9,85	N.D.	2,3E-04	6,0E-04	4,6E-04
A_0062	Ribulose 5-phospha	C00199,C01101	HMDB00618	229,012	10,82	N.D.	9,8E-05	1,0E-04	N.D.
A_0041	Uric acid	C00366	HMDB00289	167,020	8,83	N.D.	6,8E-05	2,4E-04	2,3E-04
C_0082	Pyridoxamine 5'-phc	C00647	HMDB01555	249,062	10,49	N.D.	1,9E-04	3,2E-04	1,9E-04
A_0012	2-Hydroxyisobutyric	No ID	HMDB00729	103,039	9,78	N.D.	3,9E-05	2,2E-04	1,0E-04
A_0035	Adipic acid	C06104	HMDB00448	145,050	14,66	N.D.	7,8E-05	1,7E-04	6,9E-05

A_0023	Citraconic acid	C02226	HMDB00634	129,019	16,78	1,5E-04	1,1E-04	2,4E-04	4,0E-04
A_0076	Fructose 1,6-diphos	C00354	HMDB01058	338,986	14,36	N.D.	1,2E-04	N.D.	N.D.
A_0096	GDP	C00035	HMDB01201	442,016	10,51	4,1E-04	1,2E-03	1,3E-03	1,1E-03
A_0019	2-Hydroxyvaleric aci	No ID	HMDB01863	117,055	9,06	2,5E-04	2,7E-04	9,7E-04	5,4E-04
A_0025	5-Oxohexanoic acid	C02129	No ID	129,055	9,01	6,2E-04	6,2E-04	2,2E-03	1,1E-03
A_0055	Citric acid	C00158	HMDB00094	191,018	25,41	3,9E-04	6,5E-04	1,5E-03	9,9E-04
A_0083	dCDP	C00705	HMDB01245	386,013	11,47	N.D.	8,9E-05	1,4E-04	1,0E-04
A_0031	o-Hydroxybenzoic a	C00805	HMDB01895	137,024	10,30	8,6E-05	1,0E-04	3,3E-04	1,9E-04
A_0075	dAMP	C00360	HMDB00905	330,059	9,29	N.D.	1,1E-04	6,5E-05	4,4E-05
C_0054	Urocanic acid	C00785	HMDB00301	139,049	8,28	1,2E-04	1,1E-04	3,5E-04	1,4E-04
C_0049	Asp	C00049,C00402	HMDB00191,HM	134,044	11,59	1,8E-04	4,4E-04	6,5E-03	5,4E-03
A_0052	Azelaic acid	C08261	HMDB00784	187,096	11,95	N.D.	7,9E-05	1,4E-04	6,7E-05
C_0039	Mevalolactone	No ID	HMDB06024	131,070	22,63	8,5E-04	8,0E-04	2,7E-03	1,5E-03
A_0085	FAD_divalent	C00016	HMDB01248	391,569	7,82	1,4E-04	5,9E-04	4,2E-04	5,9E-04
A_0068	Sedoheptulose 7-ph	C05382	HMDB01068	289,032	9,52	N.D.	2,3E-04	6,7E-04	5,1E-04
C_0002	Ethanolamine	C00189	HMDB00149	62,061	6,30	N.D.	3,7E-04	8,8E-04	3,2E-04
A_0061	Ribose 5-phosphate	C00117	HMDB01548	229,011	10,45	N.D.	1,4E-04	1,5E-04	N.D.
A_0020	Benzoic acid	C00180	HMDB01870	121,029	9,75	8,2E-04	7,5E-04	2,4E-03	1,2E-03
C_0072	Arg	C00062,C00792	HMDB00517,HM	175,118	7,08	3,9E-04	1,8E-04	1,9E-03	N.D.
C_0007	Putrescine	C00134	HMDB01414	89,107	4,64	6,3E-04	7,5E-04	2,7E-01	5,7E-04
A_0007	Lactic acid	C00186,C00256	HMDB00190,HM	89,024	10,63	6,7E-03	7,5E-03	2,0E-02	9,2E-03
A_0039	Terephthalic acid	C06337	HMDB02428	165,018	16,32	1,1E-04	1,0E-04	1,7E-04	8,4E-05
C_0046	5-Aminoindole	No ID	No ID	133,075	7,76	1,9E-04	1,7E-04	1,2E-04	1,2E-04

C_0070	Indole-3-acetaldoxin	C02937 C0269	No ID <input type="checkbox"/> No ID	175,088	22,46	8,4E-04	7,7E-04	1,5E-03	8,5E-04
A_0051	XA0017	No ID	No ID	186,113	7,81	8,1E-05	8,6E-05	1,7E-04	8,5E-05
C_0051	Hypoxanthine	C00262	HMDB00157	137,045	11,17	N.D.	1,5E-04	8,3E-04	7,8E-04
C_0021	Choline	C00114	HMDB00097	104,107	6,83	N.D.	9,1E-05	1,9E-04	8,6E-05
A_0036	3-Phenylpropionic acid	C05629	HMDB00764	149,060	8,73	2,9E-04	6,7E-04	5,5E-04	3,7E-04
A_0030	<i>p</i> -Toluic acid	C01454	No ID	135,044	9,08	5,4E-03	5,4E-03	1,6E-02	8,1E-03
C_0023	Diethanolamine	C06772	HMDB04437	106,086	7,62	6,0E-04	8,5E-04	9,3E-04	4,5E-04
C_0001	Urea	C00086	HMDB00294	61,040	21,47	N.D.	5,0E-03	7,0E-02	6,5E-03
C_0062	Triethanolamine	C06771	No ID	150,112	8,23	9,1E-05	9,0E-05	1,3E-04	8,7E-05
C_0087	Glu-Glu	C01425	No ID	277,102	10,92	N.D.	1,7E-04	1,5E-03	1,0E-03
C_0011	Glycerol	C00116	HMDB00131	93,055	22,42	5,2E-01	6,1E-01	9,1E-01	5,1E-01
A_0056	Quinic acid	C00296	HMDB03072	191,055	8,05	8,2E-05	1,7E-04	1,3E-04	1,3E-04
C_0018	GABA	C00334	HMDB00112	104,070	7,67	2,3E-03	2,5E-03	5,0E-04	4,3E-04
A_0004	Crotonic acid	C01771	No ID	85,030	10,33	9,1E-05	9,8E-05	6,0E-04	1,2E-04
A_0017	Hexanoic acid	C01585	HMDB00535	115,076	8,86	1,6E-04	6,7E-04	5,3E-03	1,7E-04
A_0014	Fumaric acid	C00122	HMDB00134	115,003	24,38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A_0021	Cyclohexanecarboxylic acid	C09822	No ID	127,076	8,68	N.D.	N.D.	2,2E-04	N.D.
A_0024	4-Methyl-2-oxovaleric acid	C00233 C0067	HMDB00695 H	129,055	9,43	N.D.	N.D.	5,3E-04	3,1E-04
A_0028	6-Hydroxyhexanoic acid	C06103	No ID	131,071	8,52	N.D.	N.D.	2,7E-04	N.D.
A_0050	Undecanoic acid	No ID	HMDB00947	185,153	7,78	N.D.	N.D.	2,2E-04	N.D.
A_0095	3',5'-ADP	C00054	HMDB00061	426,022	13,16	N.D.	N.D.	7,7E-04	N.D.
C_0004	1,3-Diaminopropane	C00986	HMDB00002	75,091	4,35	N.D.	N.D.	7,9E-04	N.D.
C_0012	1-Methyl-2-pyrrolidone	C11118	No ID	100,076	22,23	N.D.	N.D.	2,0E-03	N.D.

C_0016	Cadaverine	C01672	HMDB02322	103,123	4,91	N.D.	N.D.	7,0E-04	N.D.
C_0026	Creatinine	C00791	HMDB00562	114,065	7,27	N.D.	N.D.	1,5E-03	N.D.
C_0040	<i>N</i> -Acetylputrescine	C02714	HMDB02064	131,117	8,44	N.D.	N.D.	6,3E-04	N.D.
C_0042	Creatine	C00300	HMDB00064	132,076	8,85	N.D.	N.D.	1,5E-03	N.D.
C_0052	Anthranilic acid	C00108	HMDB01123	138,055	10,70	N.D.	N.D.	N.D.	7,3E-05
C_0063	Guanine	C00242	HMDB00132	152,057	8,30	N.D.	N.D.	N.D.	6,7E-05
C_0079	Thymidine	C00214	HMDB00273	243,100	22,49	N.D.	N.D.	8,1E-04	N.D.
C_0094	S-Lactoylglutathione	C03451	HMDB01066	380,110	13,93	N.D.	N.D.	N.D.	3,7E-04
A_0043	Dihydroxyacetone p	C00111	HMDB01473	168,990	12,47	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A_0070	dCMP	C00239	HMDB01202	306,049	9,61	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0019	<i>N</i> -Methylalanine	C02721	No ID	104,071	10,28	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0031	2-Methylserine	C02115	No ID	120,065	10,38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0056	γ-Butyrobetaine	C01181	HMDB01161	146,117	7,91	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0084	7,8-Dihydroneopterin	C04874	HMDB02275	256,103	11,16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A_0038	Phthalic acid	C01606	HMDB02107	165,018	15,06	N.D.	N.D.	N.D.	8,5E-05
A_0091	Sucrose 6'-phospha	C02591	No ID	421,074	8,49	N.D.	N.D.	1,9E-04	1,5E-04
C_0037	<i>N,N</i> -Dimethylaniline	C02846	HMDB01020	122,096	8,10	N.D.	N.D.	1,5E-04	1,8E-04
C_0048	Thiaproline	No ID	No ID	134,027	14,04	N.D.	N.D.	1,7E-04	1,7E-04
A_0034	2-Oxoglutaric acid	C00026	HMDB00208	145,013	20,93	N.D.	N.D.	9,7E-04	4,9E-04
C_0089	Ophthalmic acid	No ID	HMDB05765	290,133	13,26	N.D.	N.D.	1,2E-03	1,2E-03
A_0047	O-Phosphoserine	C01005	HMDB00272	184,001	12,10	N.D.	N.D.	1,1E-04	1,1E-04
A_0064	Glucose 1-phosphat	C00103	HMDB01586	259,020	10,03	N.D.	N.D.	N.D.	6,7E-05
A_0097	dCTP	C00458	HMDB00998	465,981	12,27	N.D.	N.D.	N.D.	1,4E-04

C_0083	Penciclovir	C07417	No ID	254,122	10,09	N.D.	N.D.	1,6E-04	1,0E-04
C_0066	O-Acetylhomoserine	C01077	No ID	162,075	11,15	N.D.	N.D.	2,0E-04	2,1E-04
A_0108	CMP- <i>N</i> -acetylneuraminate	C00128	HMDB01176	613,144	8,24	N.D.	N.D.	8,0E-04	6,5E-04
C_0068	Pterin	C00715	HMDB00802	164,056	10,27	N.D.	N.D.	5,7E-04	1,0E-03
A_0053	<i>N</i> -Acetylglutamic acid	C00624	HMDB01138	188,055	13,00	N.D.	N.D.	6,3E-04	4,2E-04
C_0075	2,6-Diaminopimelic acid	C00666	HMDB01370	191,102	8,88	N.D.	N.D.	3,3E-04	2,2E-04
A_0048	2-Phosphoglyceric acid	C00631	HMDB03391	184,984	18,80	N.D.	N.D.	2,4E-04	2,0E-04
C_0071	<i>N</i> -Acetylornithine	C00437	HMDB03357	175,107	9,57	N.D.	N.D.	3,0E-04	1,3E-04
A_0049	3-Phosphoglyceric acid	C00197	HMDB00807	184,985	19,25	N.D.	N.D.	1,2E-03	9,9E-04
A_0009	Succinic semialdehyde	C00232	HMDB01259	101,025	9,81	N.D.	N.D.	8,2E-04	N.D.
C_0055	Ectoine	C06231	No ID	143,081	9,24	N.D.	N.D.	2,0E-04	5,9E-04
C_0077	Trp	C00078,C00525	HMDB00929	205,096	11,04	N.D.	N.D.	6,5E-04	4,7E-04
A_0040	Phosphoenolpyruvic acid	C00074	HMDB00263	166,973	20,65	N.D.	N.D.	8,6E-04	5,1E-04
C_0024	<i>p</i> -Aminophenol	C02372	HMDB01169	110,059	7,81	N.D.	N.D.	2,8E-04	1,0E-04
A_0044	Glycerol 2-phosphate	C02979	No ID	171,005	12,52	N.D.	N.D.	N.D.	2,1E-04
C_0017	2-Aminobutyric acid	C02261,C02356	HMDB00452	104,070	9,64	N.D.	N.D.	7,1E-04	N.D.
C_0058	Gln	C00064,C00303	HMDB00641,HM	147,076	10,78	N.D.	N.D.	6,9E-03	6,5E-03
C_0057	Spermidine	C00315	HMDB01257	146,164	4,46	N.D.	N.D.	1,7E-02	7,9E-05
A_0082	CoA_divalent	C00010	HMDB01423	382,549	10,48	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0092	Glutathione (GSH)	C00051	HMDB00125	308,090	13,28	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0093	XC0137	No ID	No ID	350,100	13,54	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C_0091	Glutathione (GSSG)	C00127	HMDB03337	307,082	12,22	N.D.	N.D.	4,6E-02	4,3E-02
C_0030	2,4-Diaminobutyric acid	C03283	HMDB06284	119,081	6,87	N.D.	N.D.	1,2E-03	2,5E-04

A_0011	3-Hydroxybutyric ac	C01089,C03197	HMDB00011,HN	103,039	9,45	N.D.	N.D.	4,3E-04	1,6E-04
C_0096	S-Adenosylmethion	C00019	HMDB01185	399,142	7,08	N.D.	N.D.	2,0E-04	7,1E-05
A_0079	IMP	C00130	HMDB00175	347,040	9,45	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A_0029	Malic acid	C00149,C00497	HMDB00156,HN	133,014	20,84	N.D.	N.D.	N.D.	1,5E-04
C_0003	Isobutylamine	C02787	No ID	74,096	6,99	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A_0005	Pyruvic acid	C00022	HMDB00243	87,008	12,71	N.D.	N.D.	3,7E-03	N.D.
A_0008	Tiglic acid	C08279	HMDB01470	99,045	9,65	N.D.	7,2E-05	5,0E-04	N.D.
A_0002	Propionic acid	C00163	HMDB00237	73,030	10,78	N.D.	4,9E-04	3,1E-03	N.D.
A_0059	Lauric acid	C02679	HMDB00638	199,170	7,64	N.D.	1,3E-04	4,3E-04	N.D.
A_0106	UDP-glucuronic acic	C00167	HMDB00935	579,027	10,89	N.D.	5,7E-05	6,4E-05	1,1E-04
A_0069	ppGpp_divalent	C01228	No ID	300,469	14,25	N.D.	1,0E-03	N.D.	N.D.
A_0010	Valeric acid	C00803	HMDB00892	101,061	9,21	1,7E-04	5,4E-04	5,6E-03	1,9E-04
A_0026	Heptanoic acid	No ID	HMDB00666	129,091	8,55	7,8E-05	4,3E-04	3,1E-03	7,6E-05
A_0033	Octanoic acid	C06423	HMDB00482	143,107	8,31	1,2E-04	5,1E-04	3,3E-03	1,0E-04
A_0006	Isobutyric acid	C02632	HMDB01873	87,045	9,76	1,5E-04	6,2E-04	3,8E-03	1,5E-04
A_0037	Pelargonic acid	C01601	HMDB00847	157,123	8,09	1,5E-04	7,9E-04	4,8E-03	1,4E-04

ID consists of analysis mode and number. 'C' and 'A' showed cation and anion modes, respectively.

N.D.: Not Detected. The metabolite which was below detection limits.

N.A.: Not Available. The calculation was not possible.

[†] Putative metabolites which were assigned on the basis of *m/z* and MT

[¶] In ratio calculation, the latter was denominator.

^{||} *p*-value in Welch's t-test. *<0.05, **<0.01, ***<0.001

They were sorted by the ratio of E- to A- in descending order.

in **red** those ratios that are $<0,2$ or >5 (or $\log_{10}>+-0.7$)

in **green** those ratios that are $<0,2$ or >5 (or $\log_{10}>+-0.7$) **and** have a p-value $< 0,1$

Relative Area								Comparative Analysis		
E-WT (fum+OAA)sta		A-WT		D-WT		E-WT		D-WT OAA vs A-fum		E-W
E1	E2	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Ratio [¶]	p-value ^{¶¶}	Ratio [¶]
1,2E-01	1,7E-01	1,1E-03	7,8E-04	1,1E-01	2,1E-03	1,5E-01	3,7E-02	103	0,003 **	133
3,4E-03	3,9E-03	9,6E-05	N.A.	9,9E-04	4,0E-05	3,6E-03	3,3E-04	10	N.A.	38
7,8E-03	5,4E-03	3,4E-04	4,7E-05	6,3E-03	4,0E-03	6,6E-03	1,7E-03	18	0,281	19
1,8E-03	1,9E-03	1,5E-04	4,8E-05	3,8E-03	1,1E-03	1,9E-03	3,8E-05	25	0,134	12
1,7E-03	1,8E-03	1,8E-04	4,1E-05	2,0E-03	1,4E-04	1,7E-03	3,6E-05	11	0,024 *	9,8
5,3E-03	6,2E-03	5,9E-04	5,2E-04	6,0E-03	1,4E-03	5,8E-03	6,1E-04	10	0,087	9,7
1,1E-03	9,6E-04	1,2E-04	6,0E-05	1,1E-03	8,5E-04	1,0E-03	1,2E-04	8,6	0,359	8,4
1,3E-03	1,2E-03	1,7E-04	6,8E-05	9,5E-04	2,5E-04	1,3E-03	3,1E-05	5,6	0,120	7,5
1,2E-03	1,4E-03	2,0E-04	1,6E-04	1,3E-03	2,6E-04	1,3E-03	1,2E-04	6,6	0,053	6,5
8,7E-03	6,9E-03	1,2E-03	1,0E-03	1,0E-02	1,0E-03	7,8E-03	1,3E-03	8,5	0,012 *	6,4
5,5E-04	3,1E-04	7,8E-05	2,6E-06	2,0E-04	1,2E-05	4,3E-04	1,7E-04	2,6	0,038 *	5,6
4,3E-04	4,5E-04	8,9E-05	7,0E-05	3,3E-04	4,7E-05	4,4E-04	1,7E-05	3,6	0,071	4,9
7,1E-04	6,5E-04	1,4E-04	9,9E-05	5,0E-04	1,8E-04	6,8E-04	3,8E-05	3,5	0,168	4,7
1,1E-03	1,0E-03	2,3E-04	2,0E-04	1,5E-03	2,2E-04	1,1E-03	7,6E-05	6,4	0,027 *	4,7
7,7E-04	7,0E-04	1,6E-04	4,7E-05	7,2E-04	1,7E-04	7,4E-04	5,1E-05	4,4	0,120	4,5
3,2E-04	3,1E-04	7,1E-05	N.A.	3,2E-04	4,6E-05	3,2E-04	5,2E-06	4,5	N.A.	4,5
4,4E-04	3,4E-04	8,8E-05	N.A.	1,4E-03	1,2E-03	3,9E-04	7,0E-05	16	N.A.	4,4
3,8E-03	4,2E-03	9,2E-04	3,8E-04	6,1E-03	1,0E-03	4,0E-03	3,2E-04	6,6	0,059	4,4
2,2E-03	1,3E-03	4,0E-04	3,7E-05	3,2E-03	5,1E-04	1,7E-03	6,6E-04	8,0	0,081	4,3

1,2E-03	1,3E-03	2,9E-04	1,7E-04	1,5E-03	2,6E-04	1,2E-03	8,3E-05	5,1	0,043	*	4,3
2,3E-03	1,8E-03	4,9E-04	5,6E-04	2,0E-04	4,4E-05	2,0E-03	3,6E-04	0,4	0,605		4,1
2,8E-04	3,1E-04	7,2E-05	N.A.	1,6E-04	N.A.	2,9E-04	2,4E-05	2,2	N.A.		4,0
5,2E-04	4,2E-04	1,2E-04	7,3E-05	2,1E-03	1,3E-03	4,7E-04	6,6E-05	18	0,273		4,0
4,3E-03	4,2E-03	1,1E-03	5,9E-04	1,6E-02	2,6E-03	4,3E-03	7,8E-05	15	0,065		3,9
5,8E-04	4,7E-04	1,4E-04	N.A.	5,6E-04	1,5E-05	5,2E-04	8,0E-05	4,1	N.A.		3,9
8,4E-04	8,1E-04	2,2E-04	5,2E-05	4,0E-03	9,1E-04	8,2E-04	2,1E-05	18	0,107		3,8
3,0E-04	2,2E-04	6,9E-05	N.A.	8,0E-05	N.A.	2,6E-04	5,7E-05	1,2	N.A.		3,8
1,3E-03	8,5E-04	2,9E-04	1,3E-05	2,1E-03	5,0E-04	1,1E-03	3,3E-04	7,2	0,125		3,7
1,3E-04	2,1E-04	4,8E-05	N.A.	3,7E-04	N.A.	1,7E-04	5,9E-05	7,7	N.A.		3,6
3,6E-04	2,7E-04	8,9E-05	4,3E-05	4,3E-04	3,0E-04	3,2E-04	6,5E-05	4,9	0,346		3,6
1,9E-03	2,0E-03	5,5E-04	2,7E-04	5,7E-03	1,6E-03	1,9E-03	4,2E-05	10	0,129		3,6
5,1E-04	5,4E-04	1,6E-04	1,0E-04	8,8E-04	4,6E-04	5,2E-04	1,9E-05	5,5	0,261		3,3
3,5E-03	2,4E-03	9,1E-04	8,8E-04	5,4E-04	3,7E-04	3,0E-03	7,6E-04	0,6	0,664		3,3
6,3E-04	4,9E-04	1,7E-04	1,4E-04	5,0E-04	4,9E-05	5,6E-04	1,0E-04	2,9	0,159		3,2
1,5E-03	1,7E-03	4,9E-04	1,2E-04	9,5E-03	2,9E-03	1,6E-03	1,0E-04	19	0,141		3,2
4,3E-04	6,0E-04	1,6E-04	1,3E-04	1,1E-03	5,5E-04	5,1E-04	1,2E-04	6,6	0,242		3,1
9,2E-03	7,7E-03	2,7E-03	2,0E-03	8,6E-03	2,2E-04	8,4E-03	1,0E-03	3,2	0,149		3,1
7,5E-04	7,0E-04	2,4E-04	N.A.	1,1E-03	2,6E-04	7,2E-04	3,6E-05	4,4	N.A.		3,0
4,6E-04	3,8E-04	1,5E-04	1,9E-05	2,1E-03	5,5E-04	4,2E-04	5,3E-05	15	0,122		2,9
1,3E-03	1,1E-03	4,1E-04	3,9E-04	1,3E-03	2,1E-04	1,2E-03	1,4E-04	3,0	0,148		2,8
1,3E-04	1,5E-04	5,0E-05	N.A.	1,1E-04	2,3E-05	1,4E-04	1,6E-05	2,2	N.A.		2,8
1,9E-04	2,4E-04	8,0E-05	6,0E-05	5,0E-04	5,7E-04	2,2E-04	3,3E-05	6,2	0,491		2,7

1,2E-03	1,6E-03	5,4E-04	2,6E-04	3,9E-03	1,1E-03	1,4E-03	2,5E-04	7,3	0,126	2,6
5,7E-03	5,8E-03	2,2E-03	1,9E-03	3,1E-03	1,5E-03	5,8E-03	4,4E-05	1,4	0,644	2,6
5,6E-04	1,8E-04	1,5E-04	N.A.	6,0E-04	2,6E-04	3,7E-04	2,7E-04	4,0	N.A.	2,5
2,8E-04	2,7E-04	1,1E-04	9,5E-05	3,6E-04	7,9E-05	2,7E-04	1,1E-05	3,2	0,106	2,4
7,8E-04	4,8E-04	2,7E-04	N.A.	5,8E-04	1,9E-05	6,3E-04	2,1E-04	2,1	N.A.	2,3
2,6E-04	2,0E-04	1,0E-04	7,4E-05	2,2E-04	6,8E-06	2,3E-04	3,9E-05	2,2	0,259	2,3
1,9E-04	2,2E-04	9,4E-05	N.A.	5,4E-04	1,2E-04	2,0E-04	2,4E-05	5,7	N.A.	2,2
5,4E-04	5,6E-04	2,6E-04	7,6E-05	1,6E-03	5,1E-04	5,5E-04	1,9E-05	6,3	0,160	2,1
6,3E-04	6,6E-04	3,0E-04	2,8E-04	7,9E-04	7,2E-04	6,5E-04	1,7E-05	2,6	0,505	2,1
2,9E-04	2,3E-04	1,2E-04	N.A.	4,4E-04	7,9E-05	2,6E-04	4,1E-05	3,6	N.A.	2,1
1,2E-03	9,3E-04	5,1E-04	4,2E-04	9,7E-04	6,0E-04	1,1E-03	2,1E-04	1,9	0,473	2,1
1,7E-04	1,0E-04	6,7E-05	N.A.	2,1E-04	1,8E-04	1,4E-04	4,9E-05	3,1	N.A.	2,1
7,0E-04	7,0E-04	3,4E-04	2,2E-05	1,2E-03	5,7E-04	7,0E-04	4,7E-06	3,5	0,284	2,0
1,1E-04	1,0E-04	5,2E-05	N.A.	3,0E-04	1,8E-04	1,1E-04	5,2E-06	5,7	N.A.	2,0
6,3E-04	9,6E-04	4,0E-04	1,5E-04	1,1E-03	3,5E-05	7,9E-04	2,3E-04	2,8	0,078	2,0
2,8E-04	3,1E-04	1,5E-04	1,1E-04	1,2E-04	4,5E-05	2,9E-04	1,8E-05	0,8	0,813	2,0
7,4E-05	8,6E-05	4,1E-05	6,7E-06	1,2E-04	4,7E-05	8,0E-05	8,2E-06	3,0	0,247	2,0
4,6E-04	4,3E-04	2,3E-04	N.A.	5,3E-04	9,6E-05	4,4E-04	2,2E-05	2,3	N.A.	2,0
1,8E-04	1,8E-04	9,8E-05	N.A.	1,0E-04	N.A.	1,8E-04	1,2E-06	1,0	N.A.	1,9
1,2E-04	1,3E-04	6,8E-05	N.A.	2,4E-04	1,4E-06	1,2E-04	4,4E-06	3,5	N.A.	1,8
3,4E-04	3,2E-04	1,9E-04	N.A.	2,6E-04	8,7E-05	3,3E-04	1,6E-05	1,3	N.A.	1,7
N.D.	6,7E-05	3,9E-05	N.A.	1,6E-04	8,4E-05	6,7E-05	N.A.	4,2	N.A.	1,7
1,7E-04	9,0E-05	7,8E-05	N.A.	1,2E-04	7,1E-05	1,3E-04	5,8E-05	1,5	N.A.	1,7

2,8E-04	1,6E-04	1,3E-04	3,2E-05	3,2E-04	1,2E-04	2,2E-04	8,1E-05	2,4	0,249	1,7
2,3E-04	1,6E-04	1,2E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1,9E-04	4,8E-05	<1	N.A.	1,7
1,5E-03	1,1E-03	8,2E-04	5,8E-04	1,2E-03	1,2E-04	1,3E-03	3,0E-04	1,4	0,540	1,6
3,8E-04	3,7E-04	2,6E-04	1,4E-05	7,6E-04	3,1E-04	3,7E-04	1,0E-05	2,9	0,260	1,4
9,1E-04	8,6E-04	6,2E-04	4,3E-06	1,6E-03	7,2E-04	8,8E-04	3,5E-05	2,6	0,293	1,4
6,0E-04	8,2E-04	5,2E-04	1,8E-04	1,3E-03	4,0E-04	7,1E-04	1,5E-04	2,5	0,186	1,4
1,4E-04	1,1E-04	8,9E-05	N.A.	1,2E-04	2,3E-05	1,2E-04	2,3E-05	1,4	N.A.	1,4
1,2E-04	1,4E-04	9,5E-05	1,3E-05	2,6E-04	1,0E-04	1,3E-04	1,7E-05	2,7	0,263	1,3
1,3E-04	1,6E-04	1,1E-04	N.A.	5,4E-05	1,5E-05	1,4E-04	2,3E-05	0,5	N.A.	1,3
2,4E-04	7,4E-05	1,2E-04	8,3E-06	2,4E-04	1,5E-04	1,6E-04	1,2E-04	2,0	0,444	1,3
5,1E-04	2,8E-04	3,1E-04	1,9E-04	6,0E-03	7,2E-04	4,0E-04	1,6E-04	19	0,045 *	1,3
1,2E-04	8,0E-05	7,9E-05	N.A.	1,0E-04	5,2E-05	1,0E-04	2,9E-05	1,3	N.A.	1,3
9,5E-04	1,1E-03	8,2E-04	3,8E-05	2,1E-03	8,9E-04	1,0E-03	6,8E-05	2,5	0,294	1,2
4,3E-04	4,5E-04	3,7E-04	3,2E-04	5,0E-04	1,2E-04	4,4E-04	1,4E-05	1,4	0,656	1,2
3,1E-04	2,3E-04	2,3E-04	N.A.	5,9E-04	1,2E-04	2,7E-04	5,9E-05	2,5	N.A.	1,2
4,2E-04	3,9E-04	3,7E-04	N.A.	6,0E-04	4,0E-04	4,1E-04	1,8E-05	1,6	N.A.	1,1
1,9E-04	1,2E-04	1,4E-04	N.A.	1,5E-04	N.A.	1,5E-04	4,7E-05	1,0	N.A.	1,1
8,0E-04	8,7E-04	7,8E-04	5,1E-05	1,8E-03	8,1E-04	8,3E-04	5,1E-05	2,3	0,321	1,1
3,6E-04	2,3E-04	2,8E-04	1,4E-04	1,9E-03	N.A.	2,9E-04	9,0E-05	6,5	N.A.	1,0
5,1E-04	8,9E-04	6,9E-04	8,0E-05	1,3E-01	1,9E-01	7,0E-04	2,7E-04	195	0,500	1,0
8,1E-03	6,2E-03	7,1E-03	5,6E-04	1,5E-02	7,6E-03	7,2E-03	1,3E-03	2,0	0,397	1,0
1,1E-04	9,7E-05	1,1E-04	6,9E-06	1,3E-04	6,1E-05	1,0E-04	7,2E-06	1,2	0,711	1,0
1,8E-04	1,6E-04	1,8E-04	1,5E-05	1,2E-04	3,3E-06	1,7E-04	1,2E-05	0,7	0,099	1,0

8,5E-04	6,9E-04	8,1E-04	4,7E-05	1,2E-03	4,9E-04	7,7E-04	1,2E-04	1,5	0,461	1,0
8,0E-05	7,4E-05	8,4E-05	4,0E-06	1,3E-04	6,2E-05	7,7E-05	4,6E-06	1,5	0,489	0,9
1,2E-04	1,6E-04	1,5E-04	N.A.	8,1E-04	3,3E-05	1,4E-04	3,0E-05	5,3	N.A.	0,9
9,7E-05	6,4E-05	9,1E-05	N.A.	1,4E-04	7,1E-05	8,0E-05	2,3E-05	1,5	N.A.	0,9
3,7E-04	4,3E-04	4,8E-04	2,7E-04	4,6E-04	1,3E-04	4,0E-04	4,2E-05	1,0	0,929	0,8
4,0E-03	4,9E-03	5,4E-03	1,7E-05	1,2E-02	5,5E-03	4,4E-03	6,7E-04	2,2	0,341	0,8
6,0E-04	5,4E-04	7,3E-04	1,8E-04	6,9E-04	3,4E-04	5,7E-04	4,2E-05	0,9	0,899	0,8
4,4E-03	3,5E-03	5,0E-03	N.A.	3,8E-02	4,5E-02	4,0E-03	6,5E-04	7,6	N.A.	0,8
7,4E-05	6,4E-05	9,0E-05	1,1E-07	1,1E-04	3,2E-05	6,9E-05	6,8E-06	1,2	0,546	0,8
1,2E-04	1,3E-04	1,7E-04	N.A.	1,3E-03	3,2E-04	1,3E-04	1,0E-05	7,3	N.A.	0,7
4,4E-01	3,7E-01	5,6E-01	6,5E-02	7,1E-01	2,8E-01	4,1E-01	4,9E-02	1,3	0,592	0,7
8,8E-05	7,4E-05	1,2E-04	6,0E-05	1,3E-04	3,1E-06	8,1E-05	9,8E-06	1,0	0,911	0,7
1,4E-03	1,4E-03	2,4E-03	1,1E-04	4,6E-04	4,8E-05	1,4E-03	6,0E-05	0,2	0,010	*
5,1E-05	5,5E-05	9,4E-05	5,0E-06	3,6E-04	3,4E-04	5,3E-05	2,4E-06	3,8	0,462	0,6
N.D.	5,1E-05	4,1E-04	3,6E-04	2,8E-03	3,7E-03	5,1E-05	N.A.	6,7	0,530	0,12
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	2,2E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	4,2E-04	1,6E-04	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	2,7E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	2,2E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	7,7E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	7,9E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	2,0E-03	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.

N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	7,0E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	1,5E-03	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	6,3E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	1,5E-03	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	7,3E-05	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	6,7E-05	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	8,1E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	3,7E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
6,7E-05	N.D.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	6,7E-05	N.A.	N.A.	N.A.	1<
6,1E-05	7,6E-05	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	6,8E-05	1,1E-05	N.A.	N.A.	1<
2,0E-04	2,3E-04	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	2,1E-04	2,4E-05	N.A.	N.A.	1<
2,0E-04	2,1E-04	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	2,1E-04	1,1E-05	N.A.	N.A.	1<
6,7E-05	N.D.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	6,7E-05	N.A.	N.A.	N.A.	1<
9,9E-05	2,3E-04	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	1,7E-04	9,4E-05	N.A.	N.A.	1<
1,6E-04	N.D.	N.D.	N.A.	8,5E-05	N.A.	1,6E-04	N.A.	1<	N.A.	1<
2,6E-04	2,7E-04	N.D.	N.A.	1,7E-04	3,0E-05	2,7E-04	4,8E-06	1<	N.A.	1<
N.D.	5,1E-05	N.D.	N.A.	1,7E-04	1,8E-05	5,1E-05	N.A.	1<	N.A.	1<
2,1E-04	2,6E-04	N.D.	N.A.	1,7E-04	2,0E-06	2,3E-04	3,7E-05	1<	N.A.	1<
1,4E-03	2,1E-03	N.D.	N.A.	7,3E-04	3,4E-04	1,8E-03	4,4E-04	1<	N.A.	1<
1,3E-03	1,8E-03	N.D.	N.A.	1,2E-03	1,6E-05	1,5E-03	3,3E-04	1<	N.A.	1<
1,0E-04	1,0E-04	N.D.	N.A.	1,1E-04	4,9E-06	1,0E-04	6,8E-07	1<	N.A.	1<
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	6,7E-05	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
1,2E-04	1,0E-04	N.D.	N.A.	1,4E-04	N.A.	1,1E-04	1,1E-05	1<	N.A.	1<

3,3E-04	3,1E-04	N.D.	N.A.	1,3E-04	4,6E-05	3,2E-04	8,6E-06	1<	N.A.	1<
9,0E-04	1,2E-03	N.D.	N.A.	2,0E-04	5,0E-06	1,1E-03	2,4E-04	1<	N.A.	1<
7,0E-04	1,3E-03	N.D.	N.A.	7,3E-04	1,1E-04	9,8E-04	4,0E-04	1<	N.A.	1<
2,1E-03	2,4E-03	N.D.	N.A.	7,9E-04	3,2E-04	2,2E-03	2,6E-04	1<	N.A.	1<
6,4E-04	1,0E-03	N.D.	N.A.	5,2E-04	1,5E-04	8,2E-04	2,6E-04	1<	N.A.	1<
2,2E-04	1,8E-04	N.D.	N.A.	2,7E-04	8,2E-05	2,0E-04	2,7E-05	1<	N.A.	1<
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	2,2E-04	2,4E-05	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
1,8E-04	2,0E-04	N.D.	N.A.	2,2E-04	1,2E-04	1,9E-04	1,9E-05	1<	N.A.	1<
8,2E-04	9,6E-04	N.D.	N.A.	1,1E-03	1,5E-04	8,9E-04	9,8E-05	1<	N.A.	1<
N.D.	3,7E-04	N.D.	N.A.	8,2E-04	N.A.	3,7E-04	N.A.	1<	N.A.	1<
2,0E-04	2,5E-04	N.D.	N.A.	3,9E-04	2,7E-04	2,3E-04	3,7E-05	1<	N.A.	1<
3,8E-04	4,1E-04	N.D.	N.A.	5,6E-04	1,3E-04	4,0E-04	1,5E-05	1<	N.A.	1<
N.D.	2,0E-04	N.D.	N.A.	6,9E-04	2,4E-04	2,0E-04	N.A.	1<	N.A.	1<
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	1,9E-04	1,3E-04	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	2,1E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
1,6E-04	N.D.	N.D.	N.A.	7,1E-04	N.A.	1,6E-04	N.A.	1<	N.A.	1<
2,5E-03	3,4E-03	N.D.	N.A.	6,7E-03	2,3E-04	2,9E-03	6,5E-04	1<	N.A.	1<
1,0E-04	3,4E-04	N.D.	N.A.	8,4E-03	1,2E-02	2,2E-04	1,7E-04	1<	N.A.	1<
7,2E-04	1,6E-03	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	1,1E-03	6,0E-04	N.A.	N.A.	1<
7,5E-02	7,4E-02	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	7,4E-02	1,8E-04	N.A.	N.A.	1<
2,2E-03	8,0E-03	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	5,1E-03	4,1E-03	N.A.	N.A.	1<
4,0E-02	6,0E-02	N.D.	N.A.	4,4E-02	2,1E-03	5,0E-02	1,5E-02	1<	N.A.	1<
7,5E-04	5,2E-04	N.D.	N.A.	7,5E-04	7,1E-04	6,3E-04	1,6E-04	1<	N.A.	1<

N.D.	1,4E-04	N.D.	N.A.	3,0E-04	1,9E-04	1,4E-04	N.A.	1<	N.A.	1<
2,3E-04	1,5E-04	N.D.	N.A.	1,4E-04	9,1E-05	1,9E-04	5,9E-05	1<	N.A.	1<
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	1,5E-04	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
1,2E-03	2,8E-04	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	7,5E-04	6,7E-04	N.A.	N.A.	1<
N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	3,7E-03	N.A.	N.D.	N.A.	1<	N.A.	N.A.
N.D.	N.D.	7,2E-05	N.A.	5,0E-04	N.A.	N.D.	N.A.	7,0	N.A.	<1
N.D.	N.D.	4,9E-04	N.A.	3,1E-03	N.A.	N.D.	N.A.	6,3	N.A.	<1
N.D.	N.D.	1,3E-04	N.A.	4,3E-04	N.A.	N.D.	N.A.	3,5	N.A.	<1
N.D.	N.D.	5,7E-05	N.A.	8,5E-05	3,0E-05	N.D.	N.A.	1,5	N.A.	<1
N.D.	N.D.	1,0E-03	N.A.	N.D.	N.A.	N.D.	N.A.	<1	N.A.	<1
N.D.	N.D.	3,6E-04	2,6E-04	2,9E-03	3,8E-03	N.D.	N.A.	8,2	0,519	<1
N.D.	N.D.	2,5E-04	2,5E-04	1,6E-03	2,2E-03	N.D.	N.A.	6,4	0,538	<1
N.D.	N.D.	3,1E-04	2,8E-04	1,7E-03	2,3E-03	N.D.	N.A.	5,5	0,543	<1
N.D.	N.D.	3,9E-04	3,3E-04	2,0E-03	2,6E-03	N.D.	N.A.	5,1	0,542	<1
N.D.	N.D.	4,7E-04	4,6E-04	2,5E-03	3,3E-03	N.D.	N.A.	5,2	0,548	<1

is

VT OAA vs A-fum

p-value ^{II}	
0,112	
N.A.	
0,120	
8,8E-04	***
6,7E-04	***
0,013	*
0,028	*
0,010	*
0,018	*
0,032	*
0,210	
0,076	
0,054	
0,072	
0,007	**
N.A.	
N.A.	
0,014	*
0,215	

ID consists of analysis mode and number. 'C' and 'A' showed cation and anion modes, respectively.

N.D.: Not Detected. The metabolite which was below detection limits.

N.A.: Not Available. The calculation was not possible.

[†] Putative metabolites which were assigned on the basis of *m/z* and MT

[¶] In ratio calculation, the latter was denominator.

^{||} p-value in Welch's t-test. *<0.05, **<0.01, ***<0.001

They were sorted by the ratio of E- to A- in descending order.

in **red** those ratios that are <0,2 or >4

in **green** those ratios that are <0,2 or >4 **and** have a p-value < 0,1

in **purple** those ratios that are higher in D (more starved) but not in E

0,046	*	
0,102		
N.A.		
0,037	*	
0,079		
N.A.		
0,019	*	
N.A.		
0,182		
N.A.		
0,069		
0,082		
0,114		
0,131		
0,102		
0,011	*	
0,113		
0,106		
N.A.		
0,058		
0,192		
N.A.		
0,139		

0,341	
N.A.	
0,419	
0,015	*
0,057	
0,377	
N.A.	
0,172	
N.A.	
0,732	
0,667	
N.A.	
0,113	
0,808	
N.A.	
N.A.	
N.A.	
0,431	
0,946	
0,963	
0,954	
0,612	
0,611	

[illegible]

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.

N.A.



[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]







